BAND 25, HEFT 1 NOVEMBER 1955

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. Takewo Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann, Zürich
M. Klinkowski, Aschersleben
H. Richter, Berlin-Dahlem

Mit 34 Abbildungen

1955

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 25, Heft 1, S. 1—112, Berlin 1955

BOTANICAL MYCOLOGICAL 29 NOV 1955

INHALT

Abhandlungen

BRUHN, CH., Untersuchungen über die *Fusarium*-Krankheit der Gladiolen (Erreger: *Fusarium oxysporum* Schl. f. *gladioli* [Massey] Snyder und Hansen). Mit 9 Abb. 1

BLUMER, S., STALDER, L. und HARDER, A., Über die gegenseitigen Beziehungen zwischen Gurkenmosaik und Gurkenmehltau. (Vorläufige Mitteilung.) Mit 4 Abb. 39

BAUMANN, G. und KLINKOWSKI, M., Ein Beitrag zur Analyse der Obstvirosen des mitteldeutschen Raumes. Mit 18 Abb. 55

BARTELS, W., Untersuchungen über die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Extrakte und Sekrete von höheren Pflanzen und einigen Mikroorganismen. Ein Beitrag zur Frage der Kompostierung tabakmosaikvirushaltigen Pflanzenmaterials. Mit 2 Abb. 72

GÄUMANN, E., Über den Wirtswechsel der *Puccinia iridis* (DC.) Wallr. 99

Kurze Mitteilungen

HEINZE, K., Versuche zur Übertragung des Blattrollvirus der Kartoffel in den Überträger (*Myzodes persicae* Sulz.) mit Injektionsverfahren. Mit 1 Abb. 103

GARAY, A. ST. und KÖKÉNYESY, S., Vergleichende Untersuchungen über die Keimung der Mutterkorn-Konidien saprophytischen und parasitischen Ursprungs. Experimente mit Antiwirkstoffen 109

Besprechungen 111

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 21,60 DM **Einzelpreis 23,80 DM**

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für Mykologie, Berlin-Dahlem

Untersuchungen über die *Fusarium*-Krankheit der Gladiolen

(Erreger: *Fusarium oxysporum* Schl. f. *gladioli* [Massey] Snyder und Hansen)

Von

Ch. Bruhn

Mit 9 Abbildungen

Inhalt: I. Einleitung. — II. Die wirtschaftliche Bedeutung der Gladiolenkrankheiten. — III. Geschichte und Verbreitung der *Fusarium*-Krankheit. — IV. Krankheitsbild und Krankheitsverlauf. — V. Der Erreger. 1. Vorbemerkungen. 2. Morphologie. 3. Physiologie. 4. Systematische Stellung. — VI. Die Bekämpfung. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis

I. Einleitung

In den Jahren 1951 und 1952 wurden der Biologischen Bundesanstalt von Berliner Gartenbaubetrieben in wachsendem Umfange Gladiolenpflanzen eingesandt, die kurz vor der Blüte ohne erkennbare Ursachen vergilbt und abgestorben waren. Die dabei aufgetretenen Ausfälle sind teilweise auf 60 bis 70 % geschätzt worden. Die Wurzeln solcher Pflanzen wiesen Symptome auf, wie sie vom Wurzelbrand bekannt sind; die Knollen aber erschienen völlig gesund.

Die Art der beobachteten Symptome ließ auf pilzliche Erreger schließen. Aus diesem Grunde wurden zunächst umfangreiche Isolierungen aus dem verfügbaren kranken Gladiolenmaterial vorgenommen. Da an einer Pflanze oft mehrere, und zwar verschiedene Erreger vorkamen, mußten erstens besondere Methoden bei der Kennzeichnung der Herkunft des jeweils untersuchten Gewebes angewandt, zum anderen durch vielfältige Infektionsversuche die von den einzelnen Erregern verursachten Schadbilder schrittweise aufgeklärt werden. Bei den am meisten aufgefallenen Erscheinungen zeigte es sich, daß die Schäden in den Berliner Betrieben durch eine Form von *Fusarium oxysporum* verursacht waren, die seit einigen Jahren offenbar überall in Deutschland die Gladiolen befällt.

Der Schadpilz ruft eine Tracheomykose und eine Knollenfäule hervor; die Blätter befallener Pflanzen welken nur sehr selten, vergilben aber häufig. Wegen der Mannigfaltigkeit der Symptome erscheint es nicht zweckmäßig, von einer *Fusarium*-Welke zu sprechen; statt dessen wird in der vorliegenden Arbeit von einer „*Fusarium*-Krankheit" gesprochen.

Die Notwendigkeit einer Klärung der Erkrankungsursachen und der Bekämpfungsmöglichkeiten wird aus einem Überblick über die Bedeutung der Krankheiten für die Wirtschaftlichkeit des Gladiolenanbaus erkennbar, der deshalb den Darlegungen über die „*Fusarium*-Krankheit" vorangestellt sei.

II. Die wirtschaftliche Bedeutung der Gladiolenkrankheiten

Über den Umfang des Gladiolenanbaus in Deutschland lassen sich aus mehreren Gründen keine exakten Angaben machen. Der Anbau als solcher wird statistisch nicht erfaßt. Importzahlen könnten wertvolle Hinweise geben, da die betriebseigene Anzucht verhältnismäßig unbedeutend ist. Leider erfaßt die Einfuhrstatistik aber nur „Blumenzwiebeln", ohne nach Arten aufzuteilen.

Für den Raum von Berlin lassen sich Anhaltspunkte aus einer kürzlich veröffentlichten Arbeit von SCHALT (1954) gewinnen. Nach SCHALT (1954, 1954 a) wurden im Jahre 1951 in Westberlin 1,64 Mill. Gladiolen im Werte von rund 400 000 DM angebaut. Da in Westberlin nach der Gartenbauerhebung von 1950 nicht ganz 5 % der Anbaufläche für Zierpflanzen des Bundesgebietes liegen, kann man unter Vorbehalt auf einen westdeutschen Gesamtanbau von mindestens 32 Mill. Pflanzen im Werte von 8 Mill. DM schließen. Die Gladiolenkultur ist eine wichtige Stütze für alle Betriebe mit einem geringen Anteil an Glasfläche; sie läßt sich, sofern kein Krankheitsbefall eintritt, verhältnismäßig billig und zur Zeit bei jeder nicht extrem ungünstigen Marktlage rentabel durchführen. Die Gladiole ist beim Publikum sehr beliebt, und ihre Kultur hat sich bisher ständig ausgebreitet. Im Jahre 1951 wurden nach SCHALT in 76 % aller Berliner Betriebe Gladiolen gebaut. Ihre Zahl im Einzelbetrieb schwankt nach eigenen Ermittlungen von Jahr zu Jahr recht beträchtlich.

Über die Schäden, die die einzelnen Krankheiten an Gladiolen in Deutschland verursachen, liegen in der Literatur keinerlei Angaben vor. Deshalb wurde im Verlauf der hiesigen Untersuchungen versucht, durch Auszählung von Musterbeständen möglichst sichere Zahlen zu gewinnen.

Für die einzelnen Schädlinge und Krankheiten gilt danach folgendes:

Die *Fusarium*-Krankheit ist heute am gefährlichsten. In manchen Jahren sind geschlossene Bestände von 50 000 bis 100 000 Pflanzen schon im August zu 50 % erkrankt. Durchschnittlicher Ausfall: 30 %.

Die *Botrytis*-Krankheit ist heute so verbreitet, daß sie alle Knollen gefährdet, die nach der Ernte nicht tadellos getrocknet werden. Im Winter 1952/53 sind in Berlin 50 % aller Knollen vernichtet worden. Durchschnittlicher Ausfall: 30 %.

Der Thrips hat 1950/51 vielfach 100 % der Blüten vernichtet; seitdem er regelmäßig bekämpft wird, tritt er nur noch in vernachlässigten Betrieben stark auf. Durchschnittlicher Ausfall: 10 %.

Lackschorf ist häufig zu finden; er zerstört aber selten eine Knolle vollständig. Durchschnittlicher Ausfall: 2 %.

Die *Septoria*-Hartfäule ist in naßkalten Lagen gefährlicher als in trockenen. Die Knollenfäule kann während der Lagerung zu erheblichen Schäden führen. Durchschnittlicher Ausfall: 10 %.

Die *Sclerotinia*-Trockenfäule gehört zu den gefährlichsten Krankheiten; in vernachlässigten Betrieben finden sich vielfach Bestände mit 50 % Ausfall. Durchschnittlicher Ausfall: 15 %.

Die angegebenen Zahlen dürfen selbstverständlich nicht einfach addiert werden; unter Berücksichtigung der Mischinfektionen ergibt sich ein Gesamtausfall an Knollen von rund 65 % im Laufe eines Jahres. Auch diese Zahl erscheint auf den ersten Blick noch zu hoch gegriffen, doch ist folgendes zu beachten: Nur etwa ein Drittel der jährlichen Ausfälle zeigt sich im Pflanzjahr vor der Blüte. Die nach dem Schnitt verbleibenden Stümpfe aber werden vom Praktiker nicht mehr beachtet. Beim Putzen und bei der Neupflanzung sortiert er viele Knollen ohne Zählen aus. Viele Betriebe graben überhaupt nur die wertvollsten Sorten aus, da ihnen ein Neukauf im Frühjahr wirtschaftlicher erscheint als der Kostenaufwand für Ernte, Trocknung, Putzen und Lagerung. Die tatsächlichen Ausfälle werden also betriebswirtschaftlich verschleiert. Auch wenn man annimmt, daß etwa 15 % Ausfall infolge mechanischer Beschädigung und Verlustes während der Erntearbeiten unvermeidbar sind, verbleibt somit als Aufgabe für den Pflanzenschutz die Verhütung eines Ausfalls von 50 %, dem 4 Mill. DM im Jahr entsprechen. Allein durch Verhütung der *Fusarium*-Krankheit könnten Bestände im Werte von mindestens 1,3 Mill. DM gesund erhalten werden.

III. Geschichte und Verbreitung der *Fusarium*-Krankheit

Eine *Fusarium*-Krankheit der Gladiolen scheint nach der vorliegenden Literatur in Deutschland früher noch niemals beobachtet worden zu sein. Wollenweber und Reinking (1935) vermerken ausdrücklich, daß die *Fusarium*-Knollenfäule nur in USA und Australien auftrete; Pape (1936) bespricht diese Krankheit mit dem gleichen Hinweise nur am Rande.

Nach den Literaturberichten aus anderen Ländern sind zwei verschiedene Krankheitstypen zu unterscheiden: Welke und Knollenfäule. Zum ersten Male scheint eine *Fusarium*-Welke an Gladiolen zu Beginn des Jahrhunderts in Kalifornien aufgetreten zu sein (Pryal 1909). Aus Holland wird eine solche Krankheit 1925 gemeldet (van Poeteren 1928), aus England 1939 (Moore). Spätere Hinweise finden sich bei Bellard (1938), Dimock (1941) und Nelson (1938). 1944 erscheint dann eine ausführliche Arbeit von McCulloch, in der auch über die Geschichte der Krankheit berichtet wird, und 1953 veröffentlichen Buxton und Robertson die Ergebnisse ihrer Untersuchungen in England. Aus Italien meldet Cifferi 1949 das Auftreten der Gladiolenwelke; sonst liegen Hinweise nur noch aus Australien vor (N. N., 1952).

Die früheste Beschreibung der *Fusarium*-Knollenfäule stammt von Massey, der sie schon 1912 zum ersten Male in USA beobachtet und seit 1916 eingehender untersucht hat, um 1922 einen kurzen Hinweis und 1926 eine ausführliche Arbeit zu veröffentlichen. Die Knollenfäule tritt nach

der vorliegenden Literatur viel häufiger auf als die Welke. Sie wird aus folgenden Ländern beschrieben: England (N. N., 1927, MOORE 1939), Australien (CARNE 1927), Holland (VAN POETEREN 1937, BALKENENDE 1951), Kanada (CONNERS 1938), Italien (PETRI 1939, VERNEAU 1949) und Argentinien (SARAVI CISNEROS 1946, CARRERA 1949).

Da Gladiolenknollen in weitem Umfange dem Welthandel unterliegen, ist damit zu rechnen, daß die *Fusarium*-Krankheit noch in vielen anderen Ländern auftritt, ohne jedoch eindeutig erkannt worden zu sein.

IV. Krankheitsbild und Krankheitsverlauf

Die Unterscheidung zwischen Welke und Knollenfäule geht auf die Arbeiten von MASSEY (1926) und MCCULLOCH (1944) zurück. Bis in die jüngste Zeit hinein werden die beiden Krankheiten meist streng auseinandergehalten (DODGE und RICKETT 1948, MOORE 1949).

Als Erreger der Welke wird *Fusarium orthoceras* APP. et WR. var. *gladioli* MCCULLOCH genannt, als Erreger der Knollenfäule *F. oxysporum* SCHLECHT. var. *gladioli* MASSEY. Da in den obengenannten Arbeiten die Symptome der Krankheiten ausführlich beschrieben worden sind, wird im folgenden nur ein kurzer Überblick gegeben, bei dem besonders die eigenen Beobachtungen berücksichtigt werden.

1. Die *Fusarium*-Knollenfäule (*Fusarium* brown rot)

Zur Erntezeit erscheinen, vornehmlich unten und seitlich, an den noch zarten Knollen hellbräunliche, wässerige Flecke von etwa 0,5 mm Durchmesser, die sich rasch vergrößern und bald dunkler werden. Sie können an jeder beliebigen Stelle der Knollenoberfläche entstehen, doch gehen sie meist von den Ansatzstellen der Wurzeln und der Hüllblätter aus (Abb. 1, links). Häufig zeigen sie eine deutliche Zonen-Bildung (Abb. 1) und haben fast immer mehr oder weniger abgerundete, niemals scharf ausgezackte Begrenzungslinien. Mehrere Flecke können zusammenfließen, doch bleibt auch in diesem Falle die Tiefenausdehnung verhältnismäßig gering. Wenn die Knollenoberfläche während der Trocknung mehr und mehr verkorkt, werden oft einzelne

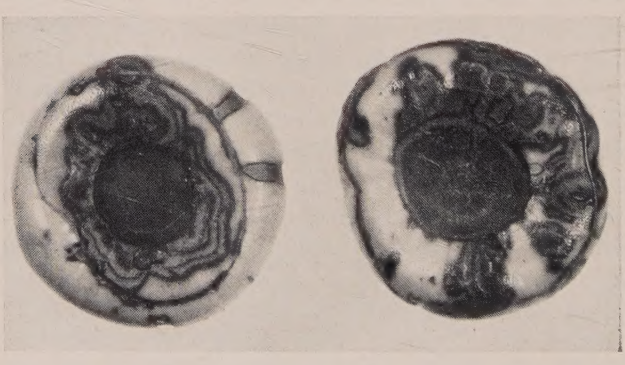


Abb. 1. *Fusarium*-Flecke an „Regenbogen". Der Erreger bevorzugt die Wurzelansätze als Eintrittspforten (links), dringt aber auch durch die unverletzte Oberhaut ein (rechts). Künstliche Infektion durch Eingießen von Sporenaufschwemmung in die Höhlung am Knollenboden

ringförmige Zonen reliefartig herausgehoben; außerdem sinken die Flecke ein, während ihre Ränder sich etwas herausheben. Die Grenzlinie, die bisher nur undeutlich sichtbar war, prägt sich jetzt scharf aus. Die Farbe der Flecke variiert von beige über rotbraun bis zum Schwarz. Selbstverständlich spielt die natürliche Knollenfarbe der einzelnen Sorten eine wesentliche Rolle.

In feuchtwarmen Lagerräumen kann die Krankheit so weit fortschreiten, daß die Knollen zu harten, schwarzen Mumien zusammenschrumpfen. Die Knollenfäule ist nach MASSEY in erster Linie eine Krankheit der lagernden Knollen. Nur dadurch, daß mitunter angefaulte Knollen mit ausgepflanzt werden, macht sie sich auch auf dem Felde bemerkbar, und zwar durch Auflaufschäden und vorzeitiges Absterben der Pflanzen. Dagegen geht sie praktisch niemals auf Wurzeln und nur ganz vereinzelt auf die Blattbasis über. Wo die natürliche Infektion hauptsächlich vor sich geht, ist nicht eindeutig geklärt. MASSEY hat nachgewiesen, daß die Knollen sowohl im Boden als auch nach der Ernte infiziert werden können. BALKENENDE gibt an, daß die Krankheit in Lagerräumen auf gesunde Knollen übergeht. Entscheidend ist aber wahrscheinlich die Zeit während und nach der Ernte, da hier die Knollen noch recht zart und die Temperaturen im Trockenraum relativ hoch sind.

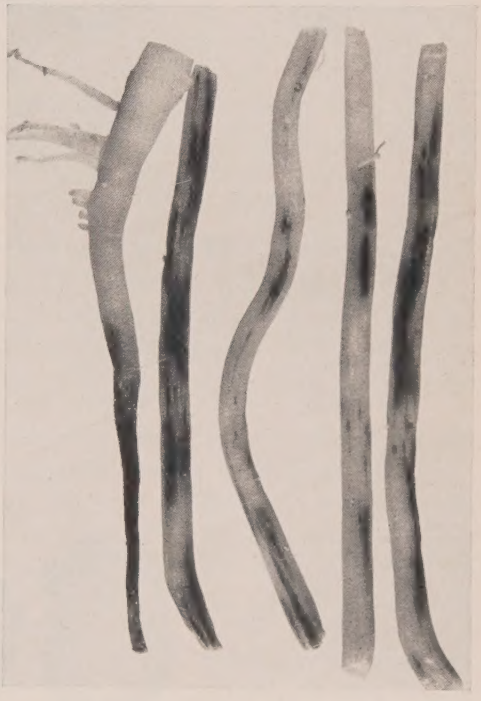


Abb. 2. *Fusarium*-Infektion an Wurzeln 1. Stufe einer Gladiole
Links: Nach der Zerstörung der Spitze werden Seitenwurzeln gebildet. Künstliche Infektion. 4,5 : 1

2. Die *Fusarium*-Welke
(Gladiolus yellows, *Fusarium* vascular disease)

Vom Boden her dringt der Pilz zunächst in die Wurzeln erster Stufe (fibrous roots) ein[1]). Der Befall macht sich durch zuerst haarfeine, später breiter werdende rotbraune Längsstreifen bemerkbar oder aber nur durch eine Verbräunung der Spitze (Abb. 2). Häufig wird nicht gleich die Rinde weiter zerstört, sondern nur der Zentralzylinder angegriffen. Dieser hebt sich dann im durchscheinenden Licht dunkel von der gesunden Rinde

[1]) Die biologischen Besonderheiten der Gladiole, die für das Studium der Krankheitserscheinungen bekannt sein müssen, sind von NEPOROSHNY (1953) ausführlich dargestellt worden.

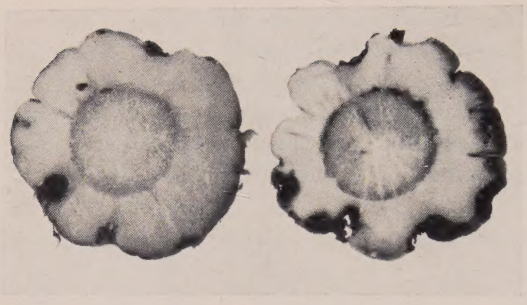


Abb. 3. Gefäßverbräunung in der Mutterknolle einer Gladiole, die nach der Pflanzung auf dem Wege über die Wurzel von *Fusarium* angegriffen worden ist. Gefäßzylinder links örtlich, rechts ringsum befallen

ab. Schließlich verfault die ganze Wurzel, und nur der Zentralzylinder bleibt noch einige Zeit lang als schwarzes faseriges Gebilde erhalten.

Treiben neue Wurzeln nach, so können sie das gleiche Schicksal erleiden oder aber dem Pilz entwachsen. Es kommt auch vor, daß die Infektion auf halbem Wege stehen bleibt; dann übernehmen Seitenwurzeln die Funktion der Wurzel (Abb. 2, links). Die Knolle bemüht sich, fortlaufend neue Wurzeln nachzutreiben.

Die Infektion der Wurzeln z w e i t e r S t u f e (contractile roots) beginnt meist auf der Unterseite der Wurzel und breitet sich dann ringförmig um diese aus, oder sie greift gleich den Zentralzylinder an. Hier schreitet sie nach beiden Richtungen fort und kann auch auf die Knolle übergehen.

Die Wurzel a n s ä t z e erstrecken sich einige Millimeter tief in die Knolle hinein und sind häufig ebenfalls verbräunt.

In der K n o l l e werden zunächst, von den Wurzelansätzen ausgehend, die Gefäße befallen (Abb. 3). Später kann die Infektion auch die Knollenoberfläche erreichen. Dort bilden sich meist eingesunkene braune Flecke (Abb. 4).

Es kann auch geschehen, daß nicht die einzelnen Gefäße, sondern der ganze Kern der Knolle befallen wird (doughnut-Typ, Abb. 5). Dann verfault entweder die Knolle bald völlig, oder der Kern wird trocken, hart und vom äußeren Gewebe scharf abgegrenzt.

Nur selten wächst der Pilz von der

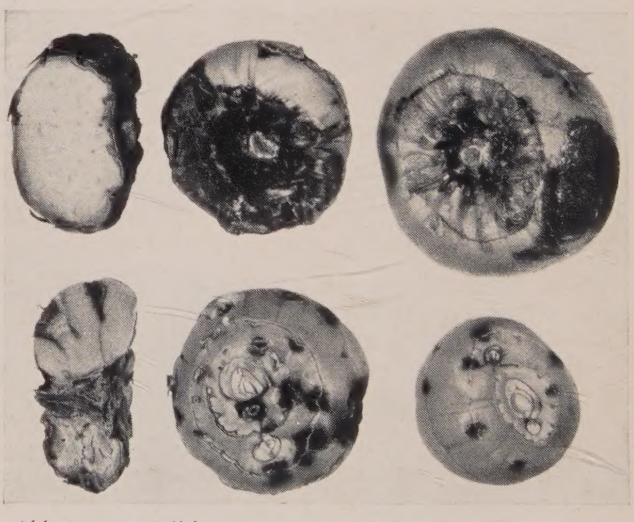


Abb. 4. Natürliche *Fusarium*-Infektion an Tochterknollen von „Dr. Dentz", aufgenommen nach der Trocknung und Einlagerung. Obere Reihe: Der Erreger ist von der Mutterknolle bzw. den Hüllblättern aus auf das Speichergewebe übergegangen; rechts sind ringförmige Zonen undeutlich erkennbar. Untere Reihe: Der Erreger ist von der Mutterknolle her den Gefäßen gefolgt. — Infolge der Trocknung sind die gesunden Gewebe scharf von den kranken abgegrenzt

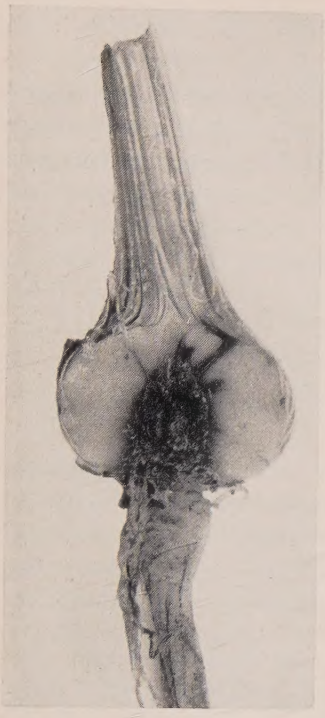


Abb. 5. Typische Kernfäule („Doughnut" - Typ der *Fusarium* - Krankheit) an Tochterknolle von *Tritonia*. Natürliche Infektion

Knolle aus in die Hüllblätter und die unteren Teile der Laubblätter ein. Trotzdem treten an den Blättern ganz deutlich Krankheitssymptome auf. Werden kranke Knollen gepflanzt, so entstehen nur wenige, kurze Blätter, die meist bald absterben. Erfolgt die Infektion erst nach der Pflanzung, dann fangen die Blätter plötzlich an, von der Spitze her streifig zu vergilben; dabei machen die äußeren Blätter meist den Anfang. Zum Schluß sterben die Blätter vollständig ab. Während der Blütenschaft sehr häufig welkt, tritt die Vergilbung bei den Blättern meist ohne vorheriges Welken ein.

Die Infektion geht zunächst vom Boden aus, doch ist die Gefahr einer Verschleppung der Krankheit mit den Knollen besonders groß, weil die Gefäßverbräunungen äußerlich nicht sichtbar sind. Von der erkrankten Mutterknolle aus wird die Tochterknolle sehr oft direkt angegriffen. Die Infektion kann während des ganzen Sommers erfolgen.

Da im Verlauf der Untersuchungen Zweifel auftauchten, ob man Welke und Knollenfäule tatsächlich scharf trennen kann, wurde das besondere Augenmerk auf die Beziehungen zwischen beiden Krankheitstypen gerichtet.

V. Der Erreger

1. Vorbemerkungen

Massey (1926) und Mc Culloch (1944) haben die Morphologie und Physiologie der von ihnen isolierten Pilze eingehend beschrieben. Von Wollenweber und Reinking ist 1935 der Erreger der Gladiolenknollenfäule in die Nähe des *Fusarium oxysporum* var. *aurantiacum* gestellt worden. Nun ist bekanntlich seit etwa 1939 die Diskussion über die Taxonomie der Gattung *Fusarium* in ein neues Stadium getreten. Das Bestimmungssystem, das Wollenweber in seiner *Fusarium*-Monographie (1931, 1943) gegeben hat, und das 16 Sektionen, 65 Arten, 55 Varietäten und 22 Formen zugrunde legt, ist seither von mehreren Forschern der Kritik unterworfen worden. Diese gründet sich auf Schwierigkeiten, die bei der praktischen Anwendung des Systems aufgetreten sind, da die von Wollenweber herangezogenen Unterscheidungsmerkmale auch in Einsporkulturen vielfach eine außerordentliche starke Variabilität gezeigt haben. Als Ursachen einer Variation seien hier genannt: Licht (Harter 1939, 1941, Snyder und Hansen 1941), Temperatur (Johann

1923) und Kulturmethoden (SNYDER und HANSEN 1939, MILLER 1946, OSWALD 1949).

Für die Sektion *Elegans* haben SNYDER und HANSEN (1940) auf Grund ihrer Versuchsergebnisse die Schlußfolgerung gezogen, daß alle Arten und Varietäten WOLLENWEBERS zu einer einzigen Art *F. oxysporum* vereinigt werden können. Aus dieser Anschauung würde eine Zusammenfassung von *F. orthoceras* var. *gladioli* Mc CULLOCH und *F. oxysporum* var. *gladioli* MASSEY resultieren. Die drei in letzter Zeit erschienenen Arbeiten, die sich mit einem *Fusarium* an Gladiolen befassen (SCURTI 1952, GAGNOTTO 1953, BUXTON und ROBERTSON 1953), streifen taxonomische Fragen nur ganz kurz. Aus diesen Gründen wurde in den hiesigen Untersuchungen der Erreger so eingehend beobachtet, daß die Ergebnisse neben der genauen Beschreibung auch einige allgemeine Schlußfolgerungen erlauben.

Zur Isolierung sind erkrankte Gewebepartien auf 2%igem Würzeagar als Nährboden ausgelegt worden. Nachdem aus den entstandenen Isolierungen zunächst mit Hilfe des Kochschen Plattengußverfahrens Einsporkulturen hergestellt worden waren, fand die weitere Kultur in Reagenzgläsern statt. Um die Pilze unter möglichst vielfältigen Ernährungsbedingungen beobachten zu können, wurden sie auf Bierwürzeagar, Möhrensaftagar, Hafermehlagar, Gerstenähren, Luzernestengeln und Reisbrei kultiviert.

Den Beobachtungen wurde ein möglichst großes Material zugrunde gelegt, doch war es aus technischen Gründen nur möglich, 32 Originalstämme (isoliert aus 23 örtlich getrennt stehenden Beständen) und 30 Reisolierungen einzubeziehen. Drei Stämme wurden von *Freesia*, zwei von *Tritonia*, einer von *Crocus*, alle anderen von Gladiolen gewonnen.

Nachdem sich die zahlreichen Reisolierungen aus den ersten Infektionsversuchen ausnahmslos als pathogen erwiesen hatten, wurde das Auftreten eines *oxysporum*-Typs in der Reisolierung aus deutlich infizierten Pflanzen als hinreichende Sicherung angesehen, auch ohne daß der jeweilige Stamm länger beobachtet worden wäre.

Die Überimpfung der Stämme auf neue Nährböden erfolgte durch Massenübertragung mit Hilfe einer Sporenaufschwemmung, die nach Möglichkeit aus Sporodochien gewonnen wurde. Anschließend wurden die Kulturen sofort bei 20 bis 25 ° C in ein helles Gewächshaus gestellt, ohne jedoch direktem Sonnenlicht ausgesetzt zu werden.

Um eine einheitliche Beurteilung der Stämme zu gewährleisten, wurden entsprechend den Forderungen von WOLLENWEBER, MILLER (1946) und SHERBAKOFF (1947) nur frische, in Hochkultur befindliche Isolierungen verglichen. Dabei konnten merkbare Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen beobachtet werden. Der besseren Übersichtlichkeit wegen sollen im folgenden aber nicht einzelne Stämme beschrieben, sondern nur die Grenzen der Schwankungsbereiche abgesteckt werden.

2. Morphologie des Erregers

Myzelbildung. Während einige Stämme ein dichtes, oft watteartiges, bis 5 cm hohes, weiß bis violett gefärbtes Luftmyzel ausbildeten, zeigten andere auch in Hochkultur kaum eine Luftmyzelbildung.

Färbungen. Auf Luzernestengel wurden niemals Substratfärbungen beobachtet, dagegen waren Möhrensaftagar und Gerstenähren häufig, Würzeagar und Hafermehlagar stets deutlich gefärbt. Die Farbtöne zeigten bei Würze- und Möhrenagar ein tiefdunkles Braunviolett, bei Hafermehlagar und Gerstenähre ein blasses Violett bis Blaugrau. Auf Reisbrei traten demgegenüber Töne vom Rosa über Blaßviolett bis zum Purpurrot auf.

Geruch. Ein spezifischer Geruch wurde bei keinem Stamm festgestellt.

Sklerotien. Auf allen Substraten konnten Sklerotien gefunden werden. Sie waren spangrün und meist groß (0,5 bis 10 mm) auf Möhrenagar, auf allen anderen Substraten aber farblos bis blauschwarz und von wechselnder Größe (0,1 bis 8 mm). Ihre Form war meist rundlich; manchmal fanden sich jedoch auch zusammengeballte und bis zu 10 mm hoch aufgetürmte Gebilde von bizarrer Form. Die Fähigkeit zur Ausbildung von Sklerotien war bei den einzelnen Stämmen sehr verschieden. Im Extremfalle fehlten Sklerotien auch in Hochkultur fast völlig.

Chlamydosporen. Im Myzel entstanden terminal wie interkalar ein- und zweizellige, kugelige oder ovale Chlamydosporen. Bei Überalterung der Kulturen gingen auch die Konidien zur Bildung von Chlamydosporen über, die jedoch deutlich kleiner waren als die im Myzel gebildeten.

Sporenlager. Bei der Mehrzahl der Stämme konnten 0,3 bis 2 mm große, lachsfarbene, farblose oder hellbräunliche Sporodochien auf allen Substraten gefunden werden. Einige Isolierungen bildeten ausschließlich weiche, der myzelfreien Substratoberfläche unmittelbar aufsitzende Lager, andere wieder von sklerotialen Elementen getragene, über das dichte Luftmyzel hervorgehobene Sporodochien. Von einzeln liegenden großen über dicht gedrängte kleine Sporodochien bis zu Pionnotes fanden sich alle Übergänge. Bei einzelnen Stämmen traten nur kümmerliche Sporodochien oder Pionnotes auf. Neben den Makrokonidienlagern bildeten sich überall im Myzel reichlich Mikrokonidien.

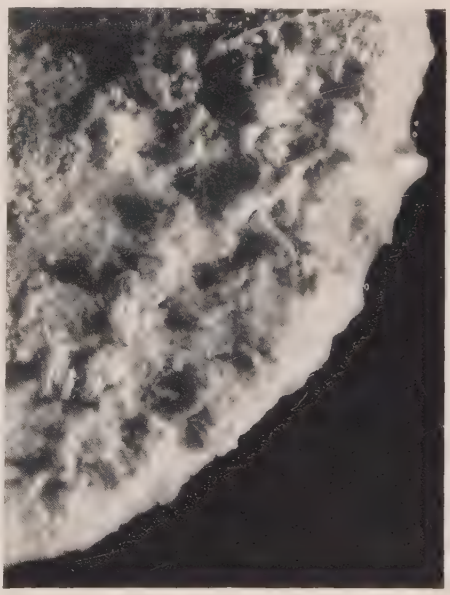


Abb. 6. Sporodochien in vielen Formen und Größen auf künstlich infizierter Gladiolenknolle. Die großen kegelförmigen Lager enthalten mehr 4- und 5-septierte Sporen als die winzigen Klümpchen. 3 : 1

KONIDIEN

Der Beobachtung der Konidien wurde große Aufmerksamkeit geschenkt, da ihrer Form und Größe im System von WOLLENWEBER besondere Bedeutung zukommt. Es sei vorweggenommen, daß insgesamt rund 6000 Sporen mit Hilfe eines Abbéschen Zeichenapparates gezeichnet und anschließend gemessen wurden. Bevor eine systematische Einordnung des Erregers erfolgen konnte, mußten einige grundlegende Fragen geklärt werden.

Bei WOLLENWEBER finden sich keinerlei Angaben darüber, wie viele Sporen zur Bestimmung der Zahlenwerte für die Abgrenzung von systematischen Einheiten jeweils herangezogen worden sind. Die Benutzung von oft sehr geringfügigen Längen- und Dickenunterschieden als Unterscheidungsmerkmal drängt aber die Frage nach den Schwankungen auf, die durch den Zufall und die Umwelteinflüsse hervorgerufen werden.

Zweifellos haben sich schon viele Forscher hierüber Gedanken gemacht. MASSEY und MC CULLOCH beispielsweise geben an, daß sie jeweils Partien von 50 Sporen ihren Messungen zugrunde gelegt haben. HARTER (1941) hat zahlenmäßig belegt, daß statistisch gesicherte Unterschiede auftreten können, wenn verschiedene Forscher Proben von 50 Sporen aus dem gleichen mikroskopischen Präparat messen, und daß erst bei Proben von mindestens 150 Sporen eine gute Übereinstimmung erzielt werden kann.

Andere Probleme, die in diesem Zusammenhang auftauchen, scheinen nach der vorliegenden Literatur noch nicht untersucht worden zu sein. Deshalb sollen im folgenden einige weitere Zahlenwerte angegeben werden.

Für die genaueren Untersuchungen wurden die 3-septierten Makrokonidien herangezogen, da 4- und 5-septierte Sporen nicht bei allen Stämmen auftraten und 0- bis 2-Septaten in Sporodochien fast völlig fehlten. Alle Präparate sind sorgfältig hergestellt worden, um eine möglichst große Gleichmäßigkeit zu gewährleisten. Aus jedem Präparat wurden dann sechs Proben zu je 25 Sporen gezeichnet, deren Mittelwerte die Grundlage für die Errechnung von Mittelwert und mittlerem Fehler des gesamten Musters (150 Stück) bildeten.

Tabelle 1 veranschaulicht den Gang einer Probemessung. Die angegebenen Zahlen stellen ein typisches Beispiel für etwa 30 untersuchte Sporenaufschwemmungen dar. In Tabelle 2 sind den Schwankungen, die bei einem Stamm auf verschiedenen Substraten beobachtet wurden, einige Größenunterschiede gegenübergestellt, die WOLLENWEBER zur Trennung von mehreren Arten und Varietäten in der *Elegans*-Gruppe heranzieht.

Aus den angegebenen Werten lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1. Die Unterschiede zwischen zwei Proben zu 50 oder nur 25 Sporen aus der gleichen Sporenaufschwemmung bleiben weit hinter den Unterschieden zwischen Proben von verschiedenen Substraten zurück. Für praktische Zwecke dürfte daher die Messung von Proben zu 50 Sporen bereits eine gute Sicherung bedeuten.

Tabelle 1

Vergleich der Maße von 3-septierten Makrokonidien aus je drei Sporodochien auf der gleichen Kultur.

Oben Stamm 10 auf Hafermehlagar. Unten Stamm 77 auf Gerstenähre.
M = Mittelwert, m = mittlerer Fehler des Gesamtmusters (150 Sporen).
Alle Werte in Mikron

Sporodochium Nr.	Probe Nr.	Mittelwerte der Proben zu je 25 Sporen	Mittelwerte der Proben zu je 50 Sporen
Stamm 10			
I	1	38,56 × 3,89	
	2	37,64 × 3,96	38,10 × 3,92
	3	38,64 × 4,12	
	4	39,36 × 3,97	39,00 × 4,05
	5	38,36 × 4,02	
	6	37,64 × 4,09	38,00 × 4,06
	M	**38,37 × 4,01**	m 0,215; 0,018
II	1	39,20 × 4,31	
	2	39,32 × 4,32	39,26 × 4,32
	3	39,56 × 4,19	
	4	38,04 × 4,20	38,80 × 4,19
	5	38,64 × 4,24	
	6	39,84 × 4,05	38,74 × 4,15
	M	**39,10 × 4,22**	m 0,286; 0,018
III	1	38,12 × 4,12	
	2	39,76 × 4,25	38,94 × 4,19
	3	38,00 × 4,03	
	4	39,12 × 4,22	38,56 × 4,12
	5	37,60 × 4,08	
	6	38,52 × 4,26	38,06 × 4,17
	M	**38,52 × 4,16**	m 0,328; 0,075
Stamm 77			
I	1	31,56 × 3,94	
	2	31,64 × 3,83	31,60 × 3,88
	3	33,08 × 3,97	
	4	32,08 × 3,80	32,58 × 3,88
	5	30,84 × 3,76	
	6	29,32 × 3,70	30,13 × 3,73
	M	**31,42 × 3,83**	m 0,635; 0,066
II	1	31,64 × 4,09	
	2	30,96 × 4,10	31,30 × 4,10
	3	30,44 × 3,95	
	4	32,00 × 3,93	31,22 × 3,94
	5	32,72 × 3,98	
	6	32,36 × 4,05	32,54 × 4,15
	M	**31,68 × 4,02**	m 0,407; 0,045
III	1	29,44 × 4,09	
	2	29,80 × 4,20	29,62 × 4,15
	3	30,60 × 4,04	
	4	29,68 × 3,84	30,14 × 3,94
	5	28,32 × 3,80	
	6	31,08 × 3,87	29,70 × 3,88
	M	**29,82 × 3,97**	m 0,392; 0,071

2. In den untersuchten Fällen gilt das gleiche auch für Proben aus verschiedenen Sporodochien ein und derselben Kultur, sofern diese gleichzeitig entnommen wurden. Der Vergleich von Probe Nr. 5 und 6 in Tabelle 2 zeigt jedoch, daß auf einer Kultur Schwankungen auftreten können, die in der gleichen Größenordnung liegen wie die Unterschiede zwischen verschiedenen Substraten.

3. Auch in Hochkultur und unter einheitlichen Bedingungen ist jederzeit damit zu rechnen, daß die auf verschiedenen Substraten ausgebildeten Sporen

Tabelle 2 Vergleich der Sporenmaße einer Isolierung mit für mehrere Arten und Varietäten

Nr. der Probe	Bezeichnung	Substrat	Maße der Mittelwert
	Fusarium orthoceras App. et. Wr.		34 × 3,6
	F. orthoceras v. longius (Sherb.) Wr.		39 × 4,0
	F. bulbigenum Cke. et Mass.		38 × 3,4
	F. b. v. blasticola Wr.		35 × 3,5
	F. b. v. tracheiphilum Wr.		33 × 3,2
	F. b. v. batatas Wr.		36 × 3,3
	F. b. v. niveum Wr.		34 × 3,6
	F. oxysporum Schlecht.		34 × 4,0
	F. o. v. cubense Wr.		35 × 4,0
	F. o. v. aurantiacum Wr.		35 × 4,3
	F. o. v. gladioli Massey		33,4 × 4,3
	F. orthoceras v. gladioli McCulloch		31,5 × 4,2
1	Stamm G 10	Würzeagar	**32,4** × 4,2
2	Übergangskultur	Möhrenagar	34,9 × **4,5**
3	Sporen aus schwach	Hafermehlagar	36,0 × 4,1
4	entwickelten Sporo-	Kartoffelagar	**40,0** × 4,2
5	dochien	Gerstenähre	34,6 × 4,3
6		Gerstenähre	38,2 × **4,0**
7		Luzernestengel	37,0 × **4,5**
8		Luzernestengel	37,3 × **4,0**
		Durchschnitt	36,3 × 4,2
9		Gladiolenknolle	38,9 × **3,9**
10	Stamm G 10	Würzeagar	38,6 × 4,1
11	nach Rückisolierung	Möhrenagar	**40,7** × **4,5**
12	in Hochkultur;	Hafermehlagar	38,4 × 4,0
13	Sporen aus kräftig	Hafermehlagar	39,1 × 4,2
14	entwickelten Sporo-	Hafermehlagar	38,5 × 4,2
15	dochien	Gerstenähre	39,8 × 4,2
16		Luzernestengel	38,7 × 4,3
		Durchschnitt	39,1 × 4,2

Jede aufgeführte Probe umfaßt 150 3-septierte Makrokonidien. Alle Werte in Mikron. Extremwerte fett gedruckt. Die Proben Nr. 5 und 6 bzw. 12, 13 und 14 wurden aus verschiedenen Sporodochien der gleichen Kultur entnommen.

der gleichen Einsporkultur Unterschiede von 5 μ in der Länge und 0,6 μ in der Dicke zeigen. In Übergangskulturen zeigt sich die Neigung zu noch größeren Schwankungen.

4. Bei Verwendung von Proben zu 150 Sporen liegt der mittlere Fehler im allgemeinen

für die Sporen l ä n g e zwischen 0,7 und 0,2 μ, meist um 0,4 μ,

für die Sporen d i c k e zwischen 0,11 und 0,03 μ, meist um 0,07 μ.

den Werten, die WOLLENWEBER und REINKING der Sektion *Elegans* angeben — *Tabelle 2*

3-septierten Sporen		Bemerkungen bei WOLLENWEBER u. REINKING (1935)	
Häufige Werte	Extremwerte		
23 — 46 × 3,0 — 4,3	15 — 61 × 2,4 — 4,8	Grundart	
34 — 45 × 3,6 — 4,4	19 — 54 × 3,2 — 4,8	länger als Grundart	
34 — 44 × 2,7 — 3,9	20 — 54 × 2,3 — 4,0	Grundart	
25 — 41 × 3,0 — 4,0	20 — 48 × 2,7 — 4,5	dicker als Grundart	
31 — 41 × 3,0 — 4,0	25 — 46 × 2,5 — 4,2	kleiner als Grundart	
31 — 43 × 2,6 — 4,0	18 — 49 × 2,3 — 4,2	schmaler als Grundart	
29 — 40 × 3,1 — 4,0	24 — 50 × 3,0 — 4,7	dicker als Grundart	
23 — 37 × 3,0 — 4,6	19 — 45 × 2,5 — 5,0	Grundart	
30 — 43 × 3,5 — 4,3	17 — 51 × 3,0 — 4,5	länger als Grundart	
30 — 42 × 3,5 — 4,8	23 — 48 × 3,0 — 5,5	größer als Grundart	
?	25 — 41 × 3,5 — 4,8	dicker als Grundart	
?	16 — 54 × 2,5 — 5,6	n. MCCULLOCH 1944	
		m (Länge)	m (Dicke)
30 — 34 × 3,7 — 4,7	22 — 39 × 2,8 — 4,7	0,45	0,06
32 — 38 × 4,0 — 4,8	24 — 41 × 3,5 — 5,0	0,49	0,07
32 — 37 × 3,7 — 4,3	21 — 43 × 3,0 — 5,0	0,29	0,07
38 — 45 × 3,9 — 4,5	24 — 48 × 3,5 — 5,0	0,10	0,05
33 — 40 × 3,9 — 4,3	18 — 45 × 3,9 — 5,1	**0,60**	0,05
35 — 42 × 3,8 — 4,3	26 — 49 × 3,0 — 5,0	0,39	0,18
33 — 40 × 4,2 — 4,9	25 — 44 × 2,9 — 5,5	0,49	**0,09**
34 — 40 × 3,7 — 4,3	23 — 46 × 3,5 — 4,8	0,19	0,05
30 — 45 × 3,7 — 4,9	18 — 49 × 2,8 — 5,5		
37 — 43 × 3,5 — 4,0	27 — 46 × 2,8 — 5,0	0,27	**0,09**
36 — 41 × 3,9 — 4,3	21 — 45 × 3,2 — 4,7	0,39	0,09
39 — 45 × 4,1 — 4,8	27 — 51 × 3,6 — 5,5	0,33	0,05
37 — 42 × 3,7 — 4,5	28 — 47 × 3,2 — 4,5	0,21	0,02
37 — 42 × 3,9 — 4,5	24 — 46 × 3,0 — 5,1	0,27	0,02
36 — 42 × 4,0 — 4,5	22 — 46 × 3,0 — 5,0	0,33	0,08
36 — 42 × 3,8 — 4,5	28 — 47 × 2,9 — 4,8	0,37	0,01
34 — 43 × 3,8 — 4,5	24 — 47 × 2,6 — 5,0	**0,46**	0,06
34 — 45 × 3,5 — 4,8	21 — 51 × 2,6 — 5,5		

Legt man auch nur eine Zufallsgrenze von 0,27 % fest, so ergibt sich unter Berücksichtigung der Freiheitsgrade eine kleinste gesicherte Differenz vom 5,5fachen des mittleren Fehlers, also für die

Sporenlänge: zwischen 4 und 1,1 μ, meist um 2,2 μ,
Sporendicke: zwischen 0,6 und 0,17 μ, meist um 0,4 μ.

Bei Einbeziehung der unter 3. gemachten Angaben läßt sich wohl allgemein sagen, daß sich zwei Sporenpopulationen mindestens um 4 μ in der Länge und 0,5 μ in der Dicke unterscheiden müssen, wenn die Unterschiede als signifikant gelten sollen; und zwar auch erst dann, wenn die Ergebnisse im Stadium der Hochkultur unter gleichen Kulturbedingungen auf mehreren verschiedenen Substraten gewonnen worden sind.

Auch der Anteil von 4- und 5-septierten Sporen an der Gesamtzahl der Makrokonidien wird von WOLLENWEBER als taxonomisches Hilfsmerkmal benutzt. Es galt deshalb, zu klären, wieweit bei einzelnen Stämmen dieses Merkmal konstant bleibt, und wieweit es innerhalb einer Sporenaufschwemmung und zwischen verschiedenen Sporodochien einer Kultur schwankt. Deshalb wurden aus jeder der rund 50 untersuchten Sporenaufschwemmungen 400 Sporen auf die Septierungsverhältnisse hin ausgezählt, und zwar in acht Proben zu je 50 Stück. Wegen der geringeren Bedeutung der Frage seien die Ergebnisse hier nur summarisch mitgeteilt.

Wurden mehrere Proben zu 50 oder 100 Stück in der gleichen Aufschwemmung gezählt, so differierten die Anteile einer Kategorie von Sporen, etwa der 4-septierten, an der Gesamtzahl der ausgezählten Sporen bei den verschiedenen Proben höchstens um 15 oder 9 Prozent. Dagegen traten zwischen Proben von verschiedenen Substraten und zwischen Proben aus verschiedenen Sporodochien auf derselben Kultur Unterschiede bis

Tabelle 3

Sporenmaße und Septierungsverhältnisse der beiden extremen Isolierungen G 10 und G 77.

A = Anzahl der ausgezählten Sporenaufschwemmungen zu je 400 Sporen.
Die Stämme waren unter gleichen Bedingungen kultiviert worden und befanden sich zur Zeit der Messung in typischer Hochkultur. Die Proben wurden aus voll entwickelten Sporodochien entnommen

Stamm	Septenzahl	Zahl der gemessenen Sporen	Konidiengröße in Mikron			A	Verteilungsquote der Septaten	
			Durchschnitt	Häufige Werte	Extremwerte		Durchschnitt %	Extremwerte %
10	0	56	8,6×3,0	7—10×2,5—4,0	6—28×2,1—4,0	25	1,3	0–4
77		132	9,6×3,1	6— 8×2,5—3,5	5—12×1,8- -4,7	18	3,5	0–7
10	1	18	16,0×3,8	13—16×3,5—4,2	10—19×3,0—5,3	25	0,4	0–2
77		78	18,4×3,2	14—18×2,9—3,5	10—30×2,4—4,0	18	3	0–5
10	2	5	23,0×3,7		16—32×3,0—3,7	25	0	0–0,5
77		19	21,2×3,4	19—23×3,2—3,6	18—32×2,8—4,0	18	0,75	0–1
10	3	2400	37,6×4,2	30—45×3,5—4,9	18—51×2,8—5,5	25	78	59–91
77		1600	31,7×3,9	23—40×3,2—4,7	19—44×2,9—5,3	18	93	86–96
10	4	391	42,2×4,2	37—47×3,5—4,8	29—53×3,0—5,5	25	15,8	5–26
77		7	39,0×3,8		28—43×3,1—3,8	18	0	0–2
10	5	83	44,4×4,2	42—46×3,9—4,2	36—51×3,5—5,2	25	3,2	0–10
77		1	42,0×3,3			18	0	0
10	6	5	45,6×4,1		40—49×3,8—5,0	25	0	0–3
77		0				18	0	0
10	7	3	47,0×4,0		45—48×3,9—4,1	25	0	0–0,1
77		0				18	0	0

zu 35 bzw. 20 Prozent auf[1]). Aus diesem Grunde dürften allgemein echte Unterschiede nur dann vorliegen, wenn bei zwei *Fusarium*-Stämmen, die auf mehreren verschiedenen Substraten beobachtet worden sind, der Anteil der 4- und 5-septierten Sporen um durchschnittlich mindestens 25 % abweicht. Dagegen scheint, an dieser großen Schwankungsbreite gemessen, die Auszählung von 100 oder 200 Sporen je Präparat völlig auszureichen.

Auf Grund der gewonnenen grundsätzlichen Erkenntnisse können die an den verschiedenen Isolierungen gemachten Beobachtungen wie folgt zusammengefaßt werden:

Zwischen einzelnen Stämmen der von Gladiolen und anderen Iridaceen isolierten, an Gladiolen nachweislich pathogenen *Fusarien* aus der Sektion *Elegans* bestehen gesicherte Unterschiede hinsichtlich der Größe der Makrokonidien und der Septierungsverhältnisse. Alle untersuchten Stämme fügen sich zwischen die Extreme ein, die durch die beiden Stämme G 10 und G 77 verkörpert werden.

Das makroskopische Bild der beiden extremen Stämme ist in Abb. 7 gezeigt, die Konidienmaße und Septierungsverhältnisse sind in Tabelle 3 aufgeführt. Aus den Abbildungen wird ersichtlich, daß nicht nur Sporenmaße und Septierungsverhältnisse, sondern auch die Sporenformen bei einzelnen Stämmen verschieden sein können.

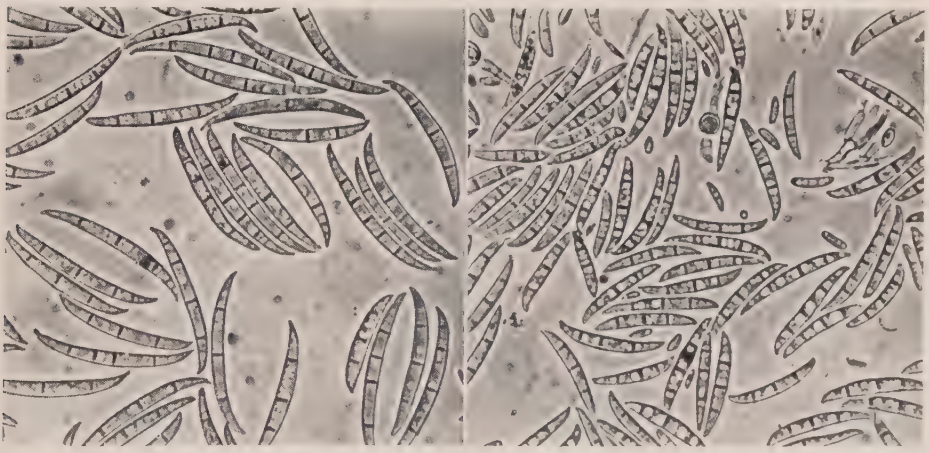


Abb. 7. Links: Typisches Bild des Stammes G 10 in Hochkultur. Sporen und Scheitelzellen lang, 4-Septaten häufig. Rechts: Typisches Bild des Stammes G 77 in Hochkultur. Sporen und Scheitelzellen kurz, ausschließlich 3-Septaten

3. Physiologie des Erregers

Orientierende Vorversuche hatten gezeigt, daß alle Stämme in einem sehr weiten pH-Bereich zu wachsen vermögen. Deshalb wurden lediglich folgende physiologische Eigenschaften der Isolierungen eingehender untersucht:

1. der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum in Kultur und auf die Infektion und
2. die Pathogenität an Gladiolen und anderen Liliifloren.

[1]) Ähnliche Unterschiede hat Harter zwischen verschiedenen Kulturröhrchen des gleichen Stammes auf dem gleichen Substrat gefunden.

TEMPERATUR

Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum ist an vier typischen Stämmen durch Messung des Durchmessers von Kulturen auf Würzeagar bestimmt worden. Es zeigte sich, daß zwischen den einzelnen Stämmen keine wesentlichen Unterschiede bestehen und daß die Kardinalpunkte um 5 °, 27 ° und 35 ° C liegen. In früheren Arbeiten sind die Werte wie folgt angegeben worden:

MASSEY	1926	Min.: 0 ° C,	Opt.: 27,5 ° C,	Max.: 35 ° C,
WOLLENWEBER	1935	Min.: 5 ° C,	Opt.: 27,5 ° C,	Max.: 35 ° C,
MC CULLOCH	1944	Min.: 3 ° C,	Opt.: 24 bis 26 ° C,	Max.: 34 bis 36 ° C.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß alle Forscher nur recht wenige Stämme untersucht haben, zeigen die Werte eine gute Übereinstimmung.

Topfversuche in temperaturkonstanten Kammern klärten den Einfluß der Temperatur auf die Infektion in den Bereichen, die auch unter natürlichen Verhältnissen vorkommen. Es ergab sich, daß schon bei 10 ° C eine Infektion stattfinden kann und daß 15 ° bereits für eine heftige Infektion ausreichen.

PATHOGENITÄT AN GLADIOLEN

Alle isolierten *Fusarium*-Stämme sind auf ihre Pathogenität geprüft worden, ehe sie zur morphologischen Untersuchung kamen. Dabei wurde stets eine Infektion an ruhenden Knollen und an wachsenden Wurzeln unternommen. Es zeigte sich, daß alle stärker pathogenen Stämme Knollen und Wurzeln anzugreifen vermögen. Unsicherheiten ergaben sich lediglich bei Stämmen, die sehr schwach pathogen waren. Wenn auch die Verhältnisse bei einzelnen Gladiolensorten verschieden liegen, so kann doch im großen und ganzen gesagt werden, daß eine Infektion an Wurzeln leichter zu erreichen ist als an Knollen. Eine Infektion an Knollen gelingt am ehesten während ihres Wachstums, mit fortschreitender Reife ist sie zunehmend schwieriger zu erreichen.

Nur 12 der 32 untersuchten Originalisolierungen erwiesen sich als stark, fünf weitere als schwach pathogen, bei den restlichen konnte trotz mehrfach wiederholter Versuche keinerlei Pathogenität festgestellt werden.

Als Maßstab für den Infektionserfolg diente bei wachsenden Pflanzen neben der Zahl der sichtbar ausgetriebenen Knollen die Gesamtlänge der gebildeten Triebe, da infizierte Pflanzen meist durch eine deutliche Triebverkürzung auffielen. Für die Bodeninfektion sind die *Fusarien* in 500-ccm-Weithalskolben auf grobem Maisschrot oder auf einem Gemisch aus Torfmull, Strohhäcksel und etwas Malzextrakt kultiviert worden. Der sterilisierten Pflanzerde, die aus einem Gemisch von Komposterde und Sand zu gleichen Teilen bestand, wurde etwa $^1/_{10}$ ihres Volumens an Infektionsmaterial zugesetzt. Diese Menge gewährleistete eine so massive Infektion, daß an der Echtheit der gefundenen Pathogenitätsunterschiede kein Zweifel bestehen kann.

Abb. 8 vermittelt einen Eindruck von der Durchführung eines Infektionsversuches an ruhenden Knollen. Sie zeigt, daß sich auch hier eine unterschiedliche Pathogenität erkennen läßt. Die Infektion wurde in sterilen, oben und unten mit feuchtem Fließpapier ausgelegten Doppelschalen von 3 × 10 bis 4 × 13 cm Größe vorgenommen. Die Knollen, von ihren Hüllblättern befreit, sind 15 Minuten in einer 1%igen Formaldehydlösung desinfiziert und dann 24 Stunden getrocknet worden. Schließlich wurden sie so in die Schalen gelegt, daß jeweils eine natürliche Höhlung nach oben zeigte, in die dann eine dichte Sporenaufschwemmung eingegossen werden konnte. Die Infektion erfolgte durch Hineinstechen eines sterilen Skalpells in die Knolle durch die Aufschwemmung hindurch, oder die Knolle blieb unverletzt. Zum Schluß wurden die Schalen in einem feuchten Raum bei 25 bis 27° C aufgestellt und das Fließpapier mit Hilfe von sterilem Leitungswasser stets feucht gehalten.

Ebenso wie in USA (Mc Clellan 1948) und England (Buxton und Robertson 1953) konnte auch in Deutschland festgestellt werden, daß die Pathogenität ein und derselben Isolierung für verschiedene Sorten nicht immer gleich ist und daß sich eine Sorte gegenüber verschiedenen Isolierungen unterschiedlich verhalten kann. Zwischen Isolierungen aus Pflanzen mit Gefäß- und Wurzelzerstörungen einerseits und mit Knollenfäule andererseits konnten keinerlei Unterschiede festgestellt werden; Welke und Knollenfäule ließen sich mit Isolierungen aus allen Teilen der Pflanze künstlich erzeugen. Über die Art der entstehenden Symptome entschieden die Infektionsmethode und die Pathogenität des verwendeten Stammes sowie die Eigenarten der verwendeten Sorte. Infolgedessen kann für das untersuchte Material eine Trennung zwischen *Fusarium*-Welke und Knollenfäule nicht aufrechterhalten werden. Beide Erscheinungen sind vielmehr als verschiedene Stadien der gleichen Krankheit aufzufassen.

Abb. 8. Unterschiedliche Pathogenität einiger Isolierungen für „Schneeprinzessin", aufgenommen drei Wochen nach der künstlichen Infektion mit Sporenaufschwemmung. Oben links: Kontrolle; rechts: G 10, geringfügige Hemmung des Austriebes, sonst wie Kontrolle. Unten links: G 16, kein Austrieb, vereinzelt Myzelbildung; rechts: F 4, alles dicht von Myzel überwachsen, Knollen bereits völlig zerstört

In die Infektionsversuche war je ein Stamm von *Fusarium oxysporum* var. *gladioli* Massey und *F. orthoceras* var. *gladioli* Mc Culloch einbezogen worden;

beide Stämme waren vom Centraalbureau voor Schimmelcultures in Baarn zur Verfügung gestellt und als Originalisolierungen von MASSEY bzw. SCURTI bezeichnet worden. Sie erwiesen sich leider als apathogen. Aus diesem Grunde mußte der ursprünglich geplante Vergleich der hiesigen Isolierungen mit den Originalstämmen unterbleiben.

PATHOGENITÄT AN ANDEREN LILIIFLOREN

Das plötzliche Auftreten von Gladiolenwelke auf Flächen, die noch nie Gladiolen getragen hatten, lenkte die Aufmerksamkeit auf die Frage nach der Wirtsbreite des Erregers. Deshalb wurden mehrere Iridaceen und einige andere Liliifloren in die Infektionsversuche einbezogen.

Mit Isolierungen von Gladiolen ist eine Infektion an folgenden Arten versucht worden:

Liliaceae: *Kniphofia mac ovanii* BAK., *Tulipa gesneriana* L.
Amaryllidaceae: *Galanthus elwesii* HOOK. *Narzissus hybr.*
Iridaceae: *Acidanthera bicolor* HOCHST.
Crocus aureus S. et S.,
Freesia hybr., Gladiolus primulinus BAK., *G. psittacinus* HOOK.
G. tristis L., *Iris germanica* L., *I. hollandica* hort., *I. reticulata* M. B., *Lapeyrousia cruenta* BENT., *Tigridia pavonia* KER.-GAWL., *Tritonia crocosmiiflora* VOSS.

Die Infektion gelang nur an den Iridaceen, und zwar an allen mit Ausnahme von *Iris germanica, I. reticulata* und *Tigridia pavonia.* Da die Pathogenität der verwendeten Stämme für Gladiolen fortlaufend überprüft wurde und da der Infektionserfolg ganz eindeutig zu erkennen war, sind nur einzelne Reisolierungen auf Pathogenität für Gladiolen geprüft worden, und zwar mit eindeutig positivem Ergebnis.

Im Verlaufe der Untersuchungen waren mehrfach Pflanzen von *Crocus, Freesia* und *Tritonia* aufgefunden worden, die ähnliche Symptome zeigten wie *fusarium*kranke Gladiolen. Aus derartigen Pflanzen konnten mehrere Stämme von *Fusarium oxysporum* isoliert werden, deren Pathogenität ebenfalls an verschiedenen Iridaceenarten geprüft wurde. Sofern sie sich als pathogen erwiesen hatten, sind sie dann auch morphologisch mit den Gladiolenstämmen verglichen worden.

Zusätzlich wurden einige Isolierungen aus Narzissen und *Iris germanica* verwendet, jedoch mit völlig negativem Erfolg. Die Ergebnisse der Infektionsversuche sind in Tabelle 4 zusammengefaßt. Dabei ist unterschieden worden zwischen Infektionen an ruhenden Knollen (im Laboratorium in Doppelschalen vorgenommen) und an wachsenden Pflanzen (Bodeninfektion in Töpfen im Gewächshaus). Für die Beurteilung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, daß bei der Bewertung des Infektionserfolges ein äußerst strenger Maßstab angelegt wurde. Gerade weil bei den wertvollen Pflanzenarten oft nur acht bis zehn Knollen mit jedem Stamm infiziert bzw. als Kontrolle belassen werden konnten, wurde das Material sehr sorgfältig ausgesucht, und

Tabelle 4

Ergebnisse der Infektionsversuche mit *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* an einigen Iridaceen

Pathogen an		*Acid-anthera*		*Crocus*		*Freesia*		*Gladi-olus*		*Iris holland.*		*Lapey-rousia*		*Tigridia*		*Tritonia*	
Isolierung von		P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
Crocus	1				+			+	?							+	
Freesia	1				+	+		+	+							—	
	3		+			+	+		+								
	4	+	+			+	+	+	+			+		+		—	
Gladiolus	4					—		+	+								
	10	?	+	+	+	—	+	+	+	+						+	
	16					?		+	+							+	
	77	?	+		+	?	+	+	+	+		+		—		+	+
	92							+	+							+	
Iris hollandica	1		+		+		+	+	+							?	
	2							+	+							?	
Tritonia	1		+			?	+	+	—							+	+
	2		+		+	?	+	+	+							+	+

Pathogenität ist: Eindeutig (+), zweifelhaft (?), nicht nachgewiesen (—).
Freies Feld: Nicht geprüft. Geprüft wurde an Knollen (K) und wachsenden Pflanzen (P)

es sind nachher alle nicht ganz eindeutigen Ergebnisse als fraglich eingestuft worden. In den meisten Fällen waren jedoch auch bei Verwendung einer geringen Zahl von Knollen ganz klare Unterschiede zu erkennen.

Schon in früheren Jahren ist es gelungen, mit *Fusarium*-Isolierungen von Gladiolen eine Erkrankung des Wurzel- und Gefäßsystems bei anderen Iridaceen hervorzurufen. Taubenhaus und Ezekiel (1933) ist eine Infektion an *Freesia* geglückt, Mc Clellan (1945) an *Babiana, Crocus, Freesia, Iris* (Zwiebeln), *Ixia, Sparaxis, Streptanthera, Tritonia* und *Watsonia.* Negative Ergebnisse haben die Infektionsversuche von Mc Culloch an *Freesia* und von Mc Clellan an *Homeria* und *Neomarica* gehabt; über Versuche an *Acidanthera, Lapeyrousia* und *Tigridia* sowie über experimentelle Erzeugung einer Knollenfäule an Iridaceen (außer Gladiolen) finden sich in der Literatur keine Angaben.

Taubenhaus und Ezekiel berichten von erfolgreichen Infektionsversuchen an Gladiolen mit Stämmen von *Fusarium bulbigenum, F. martii-minus, F. moniliforme* und *F. solani*, die eine Welke und Knollenfäule an *Freesia* hervorrufen. Mc Culloch hat in *Freesia, Tigridia* und *Tritonia* ein *Fusarium* gefunden, das morphologisch *F. orthoceras* f. *gladioli* gleicht, doch sind ihre Infektionsversuche an Gladiolen nur bei den Stämmen von *Tigridia* und *Tritonia* erfolgreich verlaufen.

Die Symptome, die in den hiesigen Untersuchungen an den verschiedenen Arten beobachtet werden konnten, glichen häufig den bei Gladiolen gefundenen. Auf einige Besonderheiten bei den einzelnen Arten muß kurz hingewiesen werden.

Acidanthera

Eine Fusariose ist bei A. noch nicht beschrieben worden.

Crocus

MOORE (1949) hat in England und Holland eine *Fusarium*-Fäule beobachtet, deren Symptome genau mit der an Gladiolen beobachteten übereinstimmen. WOLLENWEBER und REINKING (1935) geben an, daß ihre Isolierungen von *Crocus* morphologisch mit *F. oxysporum* var. *gladioli* MASSEY übereinstimmen, haben aber wohl keine Kreuzinfektionen ausgeführt.

Die *Crocus*-Knollen sind sehr zart und infektionsempfindlich. Kommt die Infektion frühzeitig zum Stillstand, so entstehen schwarze oder violette, nicht braune, flache Flecke; im übrigen gleicht das Befallsbild völlig dem an Gladiolen. Die Blattvergilbung ist nicht so typisch streifig wie an Gladiolen, sondern erfaßt die sehr schmalen Blätter eher gleichmäßig. Eine Welke an *Crocus* war in Berliner Beständen nur in einem einzigen Falle zu finden.

Freesia

Ein *Fusarium oxysporum* ist an *Freesia* nicht beschrieben worden, doch gleichen die Symptome, die nach TAUBENHAUS und EZEKIEL (1933) durch einige andere *Fusarien* hervorgerufen werden können, genau den in Berlin an Freesien und Gladiolen beobachteten. *Fusarium*-Flecke an Freesienknollen sind häufig leuchtend rot bis lachsfarben oder hellbraun. Die Knolle fault außerordentlich leicht, und wenn die Infektion über die Wurzel in die Gefäße dringt, erfaßt sie rascher als bei Gladiolen das umliegende Gewebe. Häufig tritt durch die Fäule keine Verbräunung des Knollengewebes ein; dieses bleibt vielmehr weiß und wird je nach den Feuchtigkeitsverhältnissen schleimig oder auch kreideartig trocken. Dieser letztere Typ der Fäule ist ebenfalls bereits bei TAUBENHAUS und EZEKIEL beschrieben worden. Die *Fusarium*-Welke ist in Berliner Gärtnereien nicht selten zu finden, doch sind die verursachten Ausfälle zur Zeit noch gering.

Iris hollandica

CREAGER (1933) hat in USA ein *Fusarium oxysporum* als Erreger einer Fäule an *I. hollandica* und *I. hispanica* beschrieben, die aus Holland importiert worden waren. Da *Iris hollandica* ebenso wie *Tigridia pavonia* Zwiebeln bildet, sind die Symptome der Fäule etwas anders als auf Abb. 1; zwischen dem Zwiebelboden, von dem die Infektion hier gewöhnlich ausgeht, und den gesunden Teilen der Zwiebel liegt eine hellbräunlich-wässerig aussehende, unscharf begrenzte Zone. Nur selten folgt die Verbräunung klar abgegrenzt den Gefäßen (Abbild. 9). Die fleischigen, fast zylindrischen Blätter sterben unter Vergilbung von der Spitze her ab, ohne daß aber eine Streifung zustande kommen könnte.

Abb. 9. Zwiebeln von *Tigridia pavonia*, künstlich vom Boden her mit *Fusarium oxysporum* aus *Freesia* infiziert. Zwiebeln von *Iris hollandica* zeigen das gleiche Krankheitsbild. 2 : 1

Lapeyrousia

Die Gattung ist ohne gärtnerische Bedeutung und wird daher in den Hand-

büchern über Pflanzenkrankheiten nicht erwähnt. Es konnte nur eine Gefäß- und Wurzelverbräunung, aber keine Knollenfäule erzeugt werden.

Tigridia

Über Krankheiten an *Tigridia* finden sich keine Angaben in der Literatur. Die Symptome an den Zwiebeln gleichen völlig den bei *Iris hollandica* beschriebenen (Abb. 9).

Tritonia

McCulloch hat 1944 in USA kurz über eine Tracheomykose berichtet, verursacht durch ein *Fusarium orthoceras*. Sonst finden sich keine Angaben. Im Sommer 1953 konnte R. Schneider in Berlin-Dahlem aus verwelkten Pflanzen, die in ihren Symptomen völlig den welkekranken Gladiolen glichen, zwei Stämme isolieren. In den folgenden Infektionsversuchen mit den verschiedensten Stämmen (Tabelle 6) erwies sich *Tritonia* als sehr anfällig. Das Knollengewebe ist weit fester als bei *Gladiolus* oder gar *Freesia* und *Crocus*. Deshalb heben sich die Gefäßverbräunungen besonders deutlich vom umliegenden Gewebe ab, und eine Knolleninfektion führt selten zu Naßfäule; meist vielmehr zu einer langsam fortschreitenden, trockenen Verbräunung des Gewebes. Bei den Flecken an den Knollen herrschen gewöhnlich rote Farbtöne vor. Die Blattvergilbung ist typisch streifig wie bei Gladiolen. Im Freiland ist die Welke nicht selten zu finden.

Aus Tabelle 6 und dem eben Gesagten läßt sich ersehen, daß zwar einzelne der geprüften Stämme nicht alle Gattungen befallen, die meisten aber mindestens zwei oder drei. Insgesamt dürften daher die Welkeerreger an verschiedenen Iridaceen als eine Einheit aufzufassen sein.

4. Die systematische Stellung des Erregers

Für die Einordnung des Erregers der Gladiolenwelke in eines der vorhandenen Systeme waren folgende Gesichtspunkte maßgeblich:

1. Vorhandensein von erheblichen Schwankungen hinsichtlich aller von Wollenweber für die Bestimmung herangezogenen morphologischen Merkmale bei den verschiedenen Stämmen auch in Hochkultur.

2. Fehlen von merkbaren Unterschieden hinsichtlich der Temperaturbeziehungen und der Art der an Gladiolen hervorgerufenen Symptome zwischen verschiedenen Stämmen.

3. Spezialisierung einzelner Stämme auf eine Gruppe von Iridaceengattungen und Gladiolensorten; ferner Vorhandensein von Pathogenitätsunterschieden zwischen verschiedenen Stämmen gegenüber einer bestimmten Sorte oder Art.

Auf Grund dieser Tatsachen war es nicht möglich, den Pilz zu einer der von Wollenweber beschriebenen Arten zu stellen (siehe Tabellen 2 und 3). Infolgedessen blieb nur die Möglichkeit, den Erreger der Gladiolenwelke als *Fusarium oxysporum* SCHL. *f. gladioli* (Massey) Snyder et Hansen zu bezeichnen. Dabei war eine weitere Unterteilung in Formen nach den verschiedenen Wirtspflanzen wegen der vielen Überschneidungen nicht vertretbar.

Mit der Einordnung in das System von Snyder und Hansen ist jedoch nicht dessen völlige Anerkennung verbunden. Natürlich reicht die Bearbeitung einer Form von *F. oxysporum* für eine grundlegende Kritik nicht aus. Trotzdem erscheinen einige Bemerkungen über die Verhältnisse innerhalb der Sektion *Elegans* notwendig. Zwar haben gerade die Untersuchungen über die

Schwankungsbreite der Konidienmaße und der makroskopisch sichtbaren Kultureigenschaften gezeigt, daß die Artgrenzen bei WOLLENWEBER zu eng gesteckt sind; andererseits lassen sich aber in das System von SNYDER und HANSEN Erreger schon dann einordnen, wenn sie nur sehr oberflächlich beobachtet worden sind (z. B. SCURTI 1952, GAGNOTTO 1953). Das ist sicher, wie die Schöpfer des Systems betonen, ein praktischer Vorteil, birgt aber doch wohl die Gefahr in sich, daß der Pilz mit der Namensgebung kaum noch ausreichend gekennzeichnet wird. SHERKAKOFF (1947) und GERLACH (1954) haben kürzlich die alte Erfahrung WOLLENWEBERS unterstrichen, daß die Variabilität der *Fusarien* wesentlich geringer wird, wenn man deren Aussehen bei optimaler Entwicklung in Hochkultur in Betracht zieht, die späteren Veränderungen in Kultur aber außer acht läßt. Selbst MILLER (1946), der die ganze Methode der Beurteilung von *Fusarien* in Kultur kritisiert hat, warnt doch zugleich vor einer zu großzügigen Zusammenlegung von Arten. Schließlich zeigen auch die hiesigen Untersuchungen, daß durchaus nicht alle morphologischen Unterschiede, die WOLLENWEBER zur Klassifizierung der *Fusarien* herangezogen hat, innerhalb der modifikativen Schwankungsgrenzen liegen. Beispielsweise würden die Unterschiede in der Sporenlänge zwischen *F. bulbigenum* und dessen Varietät *tracheiphilum* (vgl. Tabelle 2) zweifellos zu sichern sein, wenn sie in Hochkultur unter gleichmäßigen Umweltbedingungen auf verschiedenen Substraten an Proben von je 50 bis 100 Stück beobachtet werden würden. Hinzu kommt, daß sich doch wohl innerhalb der Sektion *Elegans* auch Unterschiede hinsichtlich der Sporenform finden. GERLACH hat erst kürzlich darauf hingewiesen. Die Beobachtungen an *F. oxysporum* f. *gladioli* ergaben ebenfalls gewisse Anhaltspunkte dafür (vgl. Abb. 7).

Leider sind bisher nur recht wenige exakte Untersuchungen über die Ursachen der Veränderung von Pilzen in Kultur veröffentlicht worden. Der Annahme von MILLER (1946), daß bei *Fusarium bulbigenum* f. *niveum* die Veränderung in Kultur auf Mutationen beruht, steht z. B. die Ansicht von HANSEN und SMITH (1932) gegenüber, die die Unstabilität vieler Merkmale bei *Botrytis cinerea* auf Heterokaryose zurückführen. Die ersten Ansätze zu einer grundsätzlichen Bearbeitung des Problems der Variabilität bei *Fusarien* hat erst kürzlich BUXTON (1953, 1954) geschaffen. Er hat nachgewiesen, daß bei *F. oxysporum* f. *gladioli* die Zellen an der Spitze der Hyphen durchschnittlich sieben Kerne haben und daß es so bei den häufigen Anastomosenbildungen leicht zur Entstehung von Heterokaryonten kommt, daß aber andererseits Mikro- und Makrokonidien stets nur von einem Kern abstammen. Ferner konnte er zeigen, daß je nach dem C/N-Verhältnis des Substrates bestimmte Kerne ausgelesen werden. Diese Erkenntnisse liefern die Möglichkeit zur Erklärung einer Erscheinung, die bisher völlig unverständlich war: des Auftretens von apathogenen Stämmen in Isolierungen aus Gewebe von sichtlich kranken Pflanzen auch dort, wo infolge der Art der Symptome und größter Sauberkeit bei der Verarbeitung eine bloße Verunreinigung mit saprophytischen Stämmen von *F. oxysporum* kaum denkbar ist. Stellt man sich den Pilz in der Natur als ein Myzel mit buntem Kern-

gemisch vor, so wäre es durchaus möglich, daß „apathogene Kerne" mit „pathogenem Myzel" in die Pflanze gelangen und daß zufällig Mikrokonidien für die Einsporkultur verwendet werden, die solche Kerne enthalten. Freilich bedürfte diese Hypothese noch des Beweises. Für die Ursachen des Abklingens der Hochkultur liefern aber die Ergebnisse von BUXTON leider noch keine Erklärung; sie beweisen nur, daß diese Ursachen nicht in der Heterokaryose gesucht werden können, da ja ein Abbau auch bei Einsporkulturen zu beobachten ist.

Solange die Ursachen der Variabilität nicht geklärt sind, wird es weiterhin Schwierigkeiten bei der Bestimmung von *Fusarien* geben. Wenn jedoch die Beobachtung einheitlich an einer genügend großen Anzahl von Stämmen erfolgt, die im diffusen Licht auf verschiedenen Substraten kultiviert worden sind und sich in Hochkultur befinden, so müßte es wenigstens möglich sein, innerhalb der Sektion *Elegans* neben *F. oxysporum* noch einige andere systematische Einheiten abzugrenzen. Freilich wäre hierzu eine gründliche Überarbeitung der Sektion erforderlich, die mehr als bisher auch statistische Methoden heranziehen müßte.

VI. Die Bekämpfung

Folgende Maßnahmen waren auf ihren Wert für die praktische Bekämpfung der *Fusarium*-Krankheit zu prüfen: Die Auswahl gesunden Pflanzgutes, die Behandlung befallenen Pflanzgutes mit Wärme und Beizmitteln und die Bodenentseuchung. Außerdem wurde untersucht, ob sich unter den Handelssorten und Wildarten der Gladiolen resistente Formen finden lassen.

1. Die Auswahl des Pflanzgutes

Alle Autoren, die sich mit der Bekämpfung der Gladiolenkrankheiten befassen, empfehlen als wichtigste Maßnahme die Vernichtung aller kranken Knollen (z. B. BALKENENDE 1951, MAGIE 1950).

Um Anhaltspunkte für die praktische Durchführung dieser Empfehlung unter deutschen Verhältnissen zu gewinnen, wurden die Verseuchung handelsüblicher Knollenbestände und das Fortschreiten der Infektion im Freiland genau studiert.

Die Knollenbestände, die auf den Markt kommen, sind sehr unterschiedlich von *Fusarium* befallen. Einige wahllos herausgegriffene Beispiele zeigt Tabelle 5.

Daß es neben dem sichtbaren auch einen unsichtbaren Befall gibt, stellte sich in verschiedenen Versuchen heraus. Aus Knollen, die nach Entfernung der Hüllblätter gründlich untersucht und als völlig gesund bezeichnet worden waren, entstanden bei Kultur in steriler Erde oftmals kranke Pflanzen. Wurden frisch geerntete, äußerlich gesunde Knollen ohne Hüllblätter bei 25 bis 30 ° C feucht gelegt, so zeigten nach drei bis vier Wochen bis zu 50 % deutliche Knollenfäule. Feldversuche ergaben, daß bis zum Herbst auch der Gladiolenbestand stark dezimiert sein kann, der im Frühjahr lediglich mit Sporen verunreinigt war, während sichtbar kranke Knollen völlig verloren

Tabelle 5

Krankheitsbefall einiger Knollenpartien, die im Frühjahr 1953 von beliebigen Händlern bezogen wurden

Zahl	Sorte u. Größe	Herkunft	Septoria	Botrytis	Schorf	Fusarium	anscheinend gesund
200	Schneeprinzessin 14 cm	Holstein	57	4	10	0	129
250	Abu Hassan 10/12 cm	Holland	3	48	12	92	95
250	Picardy 10/12 cm	Holland	0	3	1	39	207

sind. Infolgedessen müssen unbedingt alle sichtbar kranken Knollen aus dem Pflanzgut entfernt werden. Am besten lassen sich kranke Pflanzen zur Erntezeit erkennen, und zwar an folgenden Symptomen:

	Gesunde Pflanze	Kranke Pflanze
Stengel bzw. Stengelstumpf	Frisch; grün oder nur von oben her durch Botrytis angegriffen.	Dürr; gelb oder braun.
Hüllblätter	Frisch; grün oder der Sorte entsprechend anders gefärbt (z. B. rötlich), die äußeren gegebenenfalls gelbbraun; stets gleichmäßig fest.	Dürr; braun, meist in sehr dunkler Tönung, oft fast schwarz; häufig brüchig oder zerfasert.
Wurzeln 2. Stufe	Dick, fleischig; weiß bis hellbraun oder gelblich, nicht braun; fest, in großer Zahl vorhanden.	Nur noch Zentralzylinder vorhanden, deshalb dünn, schokoladenbraun. Reste der fleischigen Rinde oft breiig. Häufig auch Wurzeln in geringer Zahl vorhanden oder völlig fehlend.
Brutknollen	Je nach Sorteneigenart mehr oder weniger reichlich vorhanden.	Fehlend.
Mutterknolle	Saftig oder verschrumpelt, aber fest. Sorteneigentümliche Form und Farbe noch deutlich erkennbar. Nach dem Trocknen leicht und restlos von der Tochterknolle abzulösen.	Ganz oder teilweise weichfaul; braun bis schwarz. Im Extremfall völlig zerfallen; falls fest, von der Tochterknolle schwer abzulösen.
Wurzeln 1. Stufe	Faserig, oft noch fleischig, 4—5 cm lang; weiß oder hellbraun. In großer Zahl vorhanden.	Nie fleischig, höchstens noch einige schokoladenbraune, weiche Fasern von 5—10 mm Länge vorhanden.

Sobald die Knollen abgetrocknet sind, verlieren sich die Unterschiede an den Wurzeln. Die Knollen sollten also sofort beim Ausgraben beobachtet werden.

Lassen sich sichtbar befallene Bestände noch relativ einfach ausschalten, so bereitet der unsichtbare Befall erhebliche Sorge. Der Gladiolenzüchter

ist hier noch in der besten Lage. Er kann sich durch ständige Auslese einen gesunden Ausgangsbestand für die Vermehrung schaffen. Die Masse der Erwerbsbetriebe jedoch, die nur einen Bruchteil des Knollenbedarfes selber heranzieht, muß in die Lage versetzt werden, sich durch direkte Bekämpfungsmaßnahmen vor Überraschungen zu schützen.

2. Die Knollenbeizung

Eine Knollenbeizung an Gladiolen war in Deutschland nur vor längerer Zeit und nur an einem sehr kleinen Material durchgeführt worden (Löbner 1924, Pape 1927). Sie hatte sich seinerzeit auch nicht gegen *Fusarium oxysporum* gerichtet, da dieses ja in Deutschland nicht bekannt war. Dagegen waren im Ausland zahlreiche Arbeiten über die Behandlung der Knollen mit den verschiedensten Fungiziden veröffentlicht worden (Creager 1944, 1945, Magie 1949/50, Miller und Magie 1950, Simonds 1949, Yoder 1949). Die Schwierigkeit lag nur darin, daß die meisten der im Ausland empfohlenen Mittel in Deutschland nicht im Handel sind. Es galt, unter den hier gebräuchlichen Handelspräparaten die geeignetsten auszuwählen und ihre Wirkung unter den klimatischen Bedingungen Mitteldeutschlands an den landläufigen Gladiolensorten zu prüfen.

In USA haben sich im wesentlichen die folgenden Mittel als Naßbeize bewährt:

Name	Wirkstoff	Konzentration	Tauchzeit
—	HgCl	2 — 4 %	5—10 min.
—	$HgCl_2$	0,1 %	2—14 h
New Improved Ceresan	Äthyl-Hg-Phosphat	0,3 %	10—30 min.
Formaldehyd	CHOH	1 — 2 %	15—60 min.
Lysol	Cresolsäure + o-hydroxydiphenol + Sapon	5,0 %	3 h.
Dow 9 B	Zink-2, 4, 5-Trichlorphenol	0,3 — 0,5 %	5 min.
Dowicide B	Natriumtrichlorphenol	1,5 %	15 min.
Spergon	Tetrachloro-p-benzochinon	2,0 %	5 min.

Die Mittel werden meist unmittelbar vor dem Pflanzen angewandt, doch kann man stärker befallene Bestände auch nach der Ernte tauchen. Neben den Naßbeizen werden auch Trockenbeizen benutzt, vor allem zur Behandlung nach der Ernte. Genannt seien Spergon, Arasan (TMTD), Fermate (Ferridimethyldithiocarbamat), Tersan (TMTD) und Parzate (Natrium- oder Zinkdithiocarbamat). Die Behandlung mit Stäubemitteln im Herbst soll bei nicht allzu stark beschädigten Knollen die Naßbeizung im Frühjahr ersetzen und außerdem die Knollen während der Lagerung schützen können.

In Holland wird meist vor der Pflanzung drei Stunden in eine 0,25%ige Lösung eines Hg-haltigen Beizmittels getaucht (Tuinbouwgids 1953).

Der Grund für die häufige Verwendung der Hg-freien Mittel liegt darin, daß die Pflanzen durch die wirksameren Hg-haltigen Präparate oftmals geschädigt worden sind (Palm 1952). Deshalb wurde in den hiesigen Unter-

suchungen die Verträglichkeit der wichtigsten Beizmittel für Gladiolen geprüft, noch ehe die Grundlagen für Bekämpfungsversuche gegeben waren. Es ergab sich, daß man im allgemeinen bei der Beizung über folgende Konzentrationen und Tauchzeiten nicht hinausgehen sollte:

$HgCl_2$	0,3 %	30 min.
Hg-Naßbeize	0,3 %	30 min.
Formaldehyd	0,5 %	30 min.
Ferbam-Spritzmittel	2 %	60 min.

Da außerdem die einzelnen Sorten sehr verschieden auf die Beizung reagierten, kann man folgern, daß die Wirkung der Beizmittel auf jede neu in den Handel kommende Sorte unter verschiedenen klimatischen Bedingungen besonders geprüft werden muß.

Neben der Beizung wurde auch eine Wärmebehandlung der Knollen durchgeführt, und zwar aus zwei Gründen:

1. Nach BALD (1952, 1953) sind Beizschäden häufig darauf zurückzuführen, daß die Oberfläche der behandelten Knollen nicht hinreichend verkorkt war.

2. Nach MARSHALL (1953) verhindert schon eine relativ dünne Korkschicht das Einwachsen von *Fusarium oxysporum*. Bei 35 ° C verkorkt die Oberfläche sehr rasch, während das Pilzwachstum bereits deutlich gehemmt ist.

Deshalb wird statt der sonst in Holland (BALKENENDE 1951) und USA (GOULD 1950) üblichen Trocknung der Knollen nach der Ernte bei 20 bis 25 ° C in USA neuerdings eine Behandlung bei 35 ° C empfohlen. Auf Grund dieser Erfahrungen wurden die hiesigen Bekämpfungsversuche so angelegt, daß jeweils die Hälfte eines infizierten Knollenbestandes bei 15 bis 25 ° C in einem normalen Gewächshaus getrocknet wurde; die andere Hälfte kam in eine temperaturkonstante Kammer von 35 ° C.

Bei 35 ° C waren die Knollen bereits nach 5 Tagen putzreif, im Gewächshaus erst nach 14 Tagen. Nach dem Putzen verblieben sie solange am jeweiligen Lager, bis sie hinreichend abgetrocknet waren, d. h. nochmals 5 bzw. 14 Tage. Nach dieser Zeit wurden sie bei 5 bis 10 ° C in einem geeigneten Keller gelagert. Einige Partien sind schon im Herbst 1953 mit Beizmitteln behandelt worden, die andern blieben für die Frühjahrsbehandlung reserviert.

Die Wirkung verschiedener Beizmittel gegen *Fusarium* wurde 1954 an mehreren Gladiolensorten geprüft. Folgende Posten standen nach Aussortieren der *Botrytis*-kranken Knollen für die Versuche im Frühjahr 1954 zur Verfügung:

2000 Stück Atlantik 12/14 cm, künstlich infiziert. Vereinzelte Knollen mit Flecken über 1 cm Größe; 50 % mit Flecken unter 5 mm Größe, 40 % äußerlich völlig gesund. Keine Gefäßverbräunungen.

500 Stück Biarritz 10/12 cm, natürlich infiziert. Hoher Anteil der Knollen mit Gefäßverbräunungen; etwa 20 % mit Flecken über 2 cm Größe; 30 % äußerlich gesund.

1000 Stück Dr. Dentz 10/12 cm. Infektion wie „Biarritz", insgesamt etwas schwächer befallen.

1200 Stück General Eisenhower 8/10 cm, natürlich infiziert. Keine Gefäßverbräunungen, aber 90 % der Knollen mit Flecken über 2 cm Größe.

1000 Stück Red Fox 12/14 cm, natürlich infiziert. Keine Gefäßverbräunung; 50 % der Knollen äußerlich gesund, 50 % mit vereinzelten Flecken bis zu 1 cm Größe.

1600 Stück Johann Strauß, künstlich infiziert, etwas schwächer als Atlantik befallen.

Die Sorten Atlantik und Johann Strauß waren künstlich infiziert worden, damit die Beizmittel auch an solchen Partien geprüft werden konnten, die den Typ des unsichtbaren Befalls verkörperten. Dieser kommt nach Meinung des Verfassers etwa so zustande, daß *Fusarium*-Sporen bei der Ernte mit anhaftenden Erdresten in die Aufbewahrungsräume gelangen. Zum Teil entstehen an den Knollen schon während der Lagerung kleine Infektionsstellen; die Masse der Knollen zeigt aber im kommenden Frühjahr noch keinerlei sichtbare Symptome. Erst während des Sommers kommt es dann zu einer kräftigen Infektion. Dieser Infektionstyp konnte auf folgende Weise nachgeahmt werden: Die Pflanzen wurden bereits Mitte September aus der Erde genommen, also noch ehe das Wurzelwachstum ganz aufgehört hatte. Sie sind dann in 10 cm tiefen Pikierkästen in infiziertem, feuchtem Torfmull bis über die Knollen so eingeschlagen worden, daß die Pflanztiefe etwa dem bisherigen Stand entsprach. Dann erhielten die Kästen bei 15 bis 20 ° C einen Platz im Gewächshaus. Durch laufende Kontrolle wurde der Zeitpunkt abgepaßt, zu dem die ersten Infektionsstellen in Erscheinung traten. Dies war nach 19 Tagen der Fall. Die Sorte Johann Strauß wurde dann sofort aus dem Einschlag genommen und getrocknet, Atlantik erst fünf Tage später. Auf diese Weise konnte die Heftigkeit der Infektion etwas abgestuft werden. Sofern im Herbst gebeizt wurde, kamen die Knollen unmittelbar aus dem Einschlag in die Beizlösung und anschließend zum Trocknen. Mikroskopische Untersuchungen zeigten, daß sich in der Lösung, die von den infizierten Knollen abgespült wurde, überall reichliche Mengen von *Fusarium*-Sporen befanden.

Zwischen dem 11. und 15. Mai erfolgte nach dem Beizen sofort die Pflanzung der Knollen. Jede Beizlösung ist nur einmal verwendet worden. Für 1000 Knollen (12/14 cm) reichten 40 l Lösung aus. Trockenbeizmittel wurden mit einer Handbeiztrommel im Überschuß aufgebracht. Die Knollen behielten ihre Hüllblätter wie unter natürlichen Verhältnissen. Die Parzellen, mit je 30 Knollen im Abstand von 30 × 12 cm bepflanzt, lagen in Schachbrettanordnung. Für jede Prüfnummer standen fünf Parzellen zur Verfügung, insgesamt also 150 Pflanzen. Während der Vegetationszeit wurde der Auflauf, die Zahl der vergilbten Pflanzen und der Blüteverlauf bonitiert. Im Oktober wurden die Knollen geerntet und unter Entfernen der Hüllblätter einzeln auf *Fusarium*-Befall untersucht.

Als Maß für die Wirksamkeit wurde zweckgemäß die Zahl der Knollen gewählt, die im Herbst 1954 gesund geerntet werden konnten. Alle Versuche wurden varianzanalytisch als Komplexversuche ausgewertet. Nur Biarritz und Atlantik Nr. 7 mußten nach der Differenzmethode (Mudra 1949) bearbeitet werden, weil infolge von *Botrytis*-Schäden während der Lagerung nicht die gleiche Anzahl Knollen aus den verschiedenen Trocknungsverfahren für die Versuche zur Verfügung stand.

In den Auswertungstabellen wurden außer den allgemein üblichen Abkürzungen noch die folgenden verwendet:

P = Prüfnummer; W = Wärmebehandlung; M = Mittelwert; D = Differenz; mD = mittlerer Fehler der Differenz; SW = Sicherungswert; WZ = Wertzahl; rel. = relativer Ertrag. MUDRA (1949) hat die drei letztgenannten Begriffe eingeführt. Es bedeutet ein

Sicherungswert 0:	Differenz nicht gesichert,	p = über 5 %,
Sicherungswert 0,25:	Differenz schwach gesichert,	p = 5—1 %,
Sicherungswert 0,5:	Differenz genügend gesichert,	p = 1—0,27 %,
Sicherungswert 0,75:	Differenz gut gesichert,	p = 0,27—0,1 %,
Sicherungswert 1,0:	Differenz sehr gut gesichert,	p = unter 0,1 %.

Die Wertzahl errechnet sich folgendermaßen:

$$WZ = \text{Ertragsdifferenz} \times SW + 100.$$

Hat beispielsweise eine Prüfnummer 184 % des Ertrages der Kontrolle erbracht bei einem Sicherungswert von 0,5, so erhält sie die Wertzahl 142.

In den Fällen, wo die F-Zahl bei einer Streuungsursache den Wert 1,0 nicht erreichte, wurden deren SQ und FG mit den entsprechenden Werten des Restes zusammengefaßt und die Fehlervarianz erst dann errechnet (z. B. WW Mittel × Wärme bei Atlantik). Der Gang der Rechnung ist aus Gründen der Raumersparnis nur bei Atlantik und Biarritz dargestellt worden; bei den übrigen Sorten sind lediglich die Endergebnisse angegeben.

Varianzanalyse der Bekämpfungsversuche

1. Sorte Atlantik

Wertetabelle (Zahl der gesunden Knollen)

P		W = Gewächshaus						W = 35°						
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	
Wiederholung	a	3	10	8	8	20	13	8	10	11	13	20	17	141
	b	7	12	9	11	17	18	8	15	10	6	18	16	147
	c	5	15	7	7	14	14	4	10	15	14	18	15	138
	d	12	18	8	10	19	8	4	12	9	12	23	17	152
	e	5	4	6	10	16	19	5	11	5	14	11	19	125
Summe:		32	59	38	46	86	72	29	58	50	59	90	84	703

$M = 703 : 60 = 11{,}71$

1. Subtraktionsglied: $11{,}71 \times 703$ $= 8232{,}13$
2. Gesamt: $3^2 + \ldots + 19^2 - 8232{,}13$ $= 1478{,}87$
3. Wiederholungen: $\frac{141^2 + \ldots + 125^2}{12} - 8232{,}13$ $= 39{,}78$
4. Mittel: $\frac{(32 + 29)^2 + \ldots + (72 + 84)^2}{10} - 8232{,}13$ $= 916{,}97$
5. Wärmebehandlung: $\frac{(32 + \ldots + 72)^2 + (29 + \ldots + 84)^2}{30} - 8232{,}13$ $= 27{,}50$
6. Wechselwirkung:
   Mittel × Wärme: $\frac{32^2 + \ldots + 84^2}{5} - 8232{,}13 - 916{,}97 - 27{,}50$ $= 16{,}80$
7. Rest: $1478{,}87 - 39{,}78 - 916{,}97 - 27{,}50 - 16{,}80$ $= 477{,}82$

Varianztabelle

Streuungsursache	SQ	FG	s^2	F-Test	P = 5 %
Gesamt	1478,87	59			
Wiederholungen	39,78	4			
Mittel	916,97	5	183,39	17,33	2,42
Wärmebehandlung	27,50	1	27,50	2,59	4,06
WW Mittel × Wärme	16,80	5	3,36	0,31	2,42
Rest	477,82	44	10,85		
Fehler	494,62	49	10,09		

mD = 1,99

Auswertung:

P	W	Mittel	M	D	t	P %	SW	rel.	WZ
1	G	Unbehandelt	6,4	—	—	—	—	100	100
2		TMTD-Spritzmittel trocken	11,8	5,4	2,71	0.98	0,5	184	142
3		Chlor. Benzol trocken	7,6	1,2	0,60	55,20	0,0	119	100
4		HgCl 2 % 5 min (+)	9,2	2,8	1,40	16,50	0,0	144	100
5		Hg-Naßbeize 1 0,3 % 30 min	17,2	10,8	5,42	<0,1	1,0	269	269
6		Ferbam Sprm. 1 % 60 min	14,4	8,0	4,02	<0,1	1,0	225	225
1	35°	} siehe G	5,8	−0,6	0,3	76,4	0,0	91	100
2			11,6	5,2	2,61	1,25	0,25	181	120
3			10,0	3,6	1,8	7,6	0,0	156	100
4			11,8	5,4	2,71	0,98	0,5	184	142
5			18,0	11,6	5,82	<0,1	1,0	281	281
6			16,8	10,4	5,22	<0,1	1,0	263	263
7*		Formaldehyd 1 % 30 min	19,0	12,6	6,33	<0,1	1,0	297	297

* nach Diffferenzmethode geprüft; (+) Triebschädigung.

2. Sorte Dr. Dentz

Varianztabelle

Streuungsursache	SQ	FG	s^2	F-Test	P = 5 %
Gesamt	1204,9	29			
Wiederholungen	16,7	4			
Mittel	754,0	2	377,0	43,0	3,47
Wärmebehandlung	133,0	1	133,0	15.2	4,32
WW Mittel × Wärme	117,1	2	58,6	6,7	3,47
Fehler	184,1	21	8,8		

mD = 1,86

Auswertung:

P	W	Mittel	M	D	t	P %	SW	rel.	WZ
1	G	Unbehandelt	6,2	—	—	—	—	100	100
2		Hg-Naßbeize 1 0,3 % 30 min	17,0	10,8	5,8	<0,1	1,0	274	274
3		Chlor. Benzol trocken	6,6	0,4	0,2	84,1	0,0	106	100
1	35°	} siehe G	2,6	−3,6	1,9	7,2	0,0	42	100
2			13,8	7,6	4,1	<0,1	1,0	223	223
3			0,8	−2,9	2,9	0,9	0,5	13	44

3. Sorte Red Fox
Varianztabelle

Streuungsursache	SQ	FG	s^2	F-Test	P = 5 %
Gesamt	670,3	29			
Wiederholungen	244,5	4			
Mittel	119,4	2	59,7	4,15	3,49
Wärmebehandlung	9,6	1	9,6	0,66	4,35
WW Mittel × Wärme	8,9	2	4,4	0,30	3,49
Rest	287,9	20	14,4		
Fehler	306,4	23	13,3		

mD = 2,28

Auswertung:

P	W	Mittel	M	D	t	P %	SW	rel.	WZ
1	G	Unbehandelt	13,2	—	—	—	—	100	100
2		Hg-Naßb. 2 0,5 % 60 min (+)	12,2	−1,0	0,43	69,2	0,0	92	100
3		Ziram-Sprm. 2,0 % 60 min	15,8	2,6	1,54	14,9	0,0	120	100
1	35°	siehe G	13,2	0,0	—	—	—	100	100
2			13.0	−0,2	0,08	92,0	0,0	98	100
3			18,4	5,2	2,28	3,2	0,25	139	110

(+) Heftige Triebschädigung; Mittel war nach der Ernte angewandt worden.

4. Sorte Johann Strauß
Varianztabelle

Streuungsursache	SQ	FG	s^2	F-Test	P = 5 %
Gesamt	976,9	49			
Wiederholungen	26,1	4			
Mittel	603,1	4	150,8	21,1	2,64
Wärmebehandlung	0,7	1	0,7	0,1	4,12
WW Mittel × Wärme	89,9	4	22.5	3,2	2,64
Rest	257,1	36	7,1		
Fehler	257,8	37	7,0		

mD = 1,667

Auswertung:

P	W	Mittel	M	D	t	P %	SW	rel.	WZ
1	G	Unbehandelt	4,8	—	—	—	—	100	100
2		Hg-Naßb. 3 0,5 % 60 min (+)	10,8	6,0	3,6	0,12	0,75	225	194
3		Ziram-Sprm. 2,0 % 60 min (+)	2.6	−2,2	1,3	20,0	0,0	54	100
4		Hg-Trockenbeize 1	12,0	7,2	4,3	<0,1	1,0	250	250
5		$HgCl_2$ 0,3 % 30 min	12,6	7,8	4,6	<0,1	1,0	263	263
1	35°	siehe G	4,4	−0,4	0,3	84,1	0,0	92	100
2			8,6	3,8	2,3	2,7	0,25	179	120
3			6,8	2,0	1,2	23,7	0,0	142	100
4			14,4	9,6	5,7	<0,1	1,0	300	300
5			9,8	5,0	2,9	0,5	0,5	204	152

(+) Triebschädigung; Mittel war nach der Ernte angewandt worden.

5. Sorte Biarritz

Auswertung nach der Differenzmethode

Werte: Zahl der gesunden Knollen.

x1, x2, x3 = Werte bei Prüfnummer 1, 2, 3.

		×2	×1	D	D²
Wieder-holung	a	2	6	4	16
	b	4	3	−1	1
	c	0	2	2	4
	d	1	5	4	16
	e	1	1	0	0
Summe:		8	17	9	37
	M	1,6	3,4	1,8	

$$mD = \sqrt{\frac{SD^2 - MD \times SD}{n\,(n-1)}} = 1{,}02$$

		×2	×3	D	D²
Wieder-holung	a	2	9	7	49
	b	4	10	6	36
	c	0	5	5	25
	d	1	3	2	4
	e	1	9	8	64
Summe:		8	36	28	178
	M	1,6	7,2	5,6	

$$mD = \sqrt{\frac{SD^2 - MD \times SD}{n\,(n-1)}} = 1{,}06$$

Auswertung:

P	W	Mittel	M	D	t	P %	SW	rel.	WZ
1	G	Unbehandelt	3,4	1,8	1,7	16,4	0,0	212	100
2	35°	Unbehandelt	1,6	—	—	—	—	100	100
3	35°	Ferbam-Sprm. 1 % 60 min	7,2	5,6	5,3	0,6	0,5	450	275

Es zeigen sich folgende Ergebnisse:

Die unterschiedliche Wirkung der Beizmittel auf verschiedene Herkünfte tritt besonders hervor. Die am stärksten infizierte Sorte Eisenhower wurde überhaupt nicht aufgeführt, da von den 1200 Knollen im Herbst 1954 nur noch 34 aufzufinden waren, darunter vier gesunde; zehn Pflanzen hatten geblüht. Ein Beizerfolg war hier naturgemäß nicht festzustellen; entsprechend gering war er auch bei den sichtbar befallenen Sorten Biarritz und Dr. Dentz. Befriedigend wirkten die Mittel nur bei unsichtbarem Befall.

Die Wärmebehandlung bei 35 ° hat nirgendwo bessere Ergebnisse gebracht als die Behandlung im Gewächshaus; bei der Sorte Dr. Dentz hat sie negativ gewirkt.

Eine Wechselwirkung zwischen Wärmebehandlung und Beizung ist bei zwei Herkünften nachweisbar. Bei der Sorte Dr. Dentz hat das chlornitrobenzolhaltige Trockenbeizmittel die wärmebehandelten Knollen geschädigt; bei der Sorte Johann Strauß wirkte die Herbstbehandlung mit der hohen Konzentration des Hg-haltigen Naßbeizmittels 3 vor allem bei der höheren Temperatur nachteilig.

Über die Wirkung der einzelnen Mittel läßt sich folgendes sagen:

1. Hg-haltige Naßbeizen: Die Wirkung war allgemein gut (Prüfnummern 5 Atlantik, 2 Dentz, 2 Strauß). Bei Red Fox wurde sie infolge der erhöhten Konzentration von Beizschäden überdeckt. Auch bei Atlantik und Dentz (0,3%ige Anwendung) ist der Trieb etwas geschädigt worden.

2. Hg-haltige Trockenbeizen wurden nur an wenigen Knollen geprüft (Nr. 4 Strauß), wirkten aber hier ebensogut wie Naßbeizen.
3. HgCl und $HgCl_2$ zeigten eine schwache Wirkung (Nr. 4 Atlantik, Nr. 5 Strauß).
4. Formaldehyd wirkte in dem einen untersuchten Fall (Nr. 7 Atlantik) sehr gut.
5. Eisen-Carbamat erwies sich als gut (Nr. 6 Atlantik, Nr. 3 Biarritz), Zink-Carbamat jedoch nicht (Nr. 3 Fox, Nr. 3 Strauß).
6. Chlornitrobenzol zeigte sich völlig unwirksam (Nr. 3 Atlantik, Nr. 3 Dentz).

Die chemische Bekämpfung der *Fusarium*-Krankheit ist damit auch für deutsche Anbauverhältnisse als möglich zu bezeichnen. Die Beizmittel sind allerdings mit Vorsicht einzusetzen, da sie einzelne Gladiolensorten unter bestimmten Bedingungen schädigen können. Wirtschaftlich dürfte eine Knollenbeizung durchaus tragbar sein: 40 l Beizlösung, die zur Behandlung von 1000 Knollen 12/14 cm ausreichen, kosten heute bei einer Hg-Naßbeize (0,3%ig) 1,14 DM, bei einem Ferbam-Spritzmittel (1%ig) 2,60 DM. Der Preis für 1000 Knollen 12/14 cm beträgt demgegenüber je nach Sorte 80,— DM bis 150,— DM. Der Arbeitsaufwand dürfte dabei betriebswirtschaftlich kaum ins Gewicht fallen. Dies zeigt die Thripsbekämpfung, bei der das Tauchverfahren in der Praxis bereits eingebürgert ist.

3. Weitere Bekämpfungsmethoden

Daß eine Infektion vom Boden her bei den meisten Fusariosen eine Rolle spielt, ist allgemein bekannt. Deshalb wurden die üblichen Methoden der chemischen Bodenentseuchung auf ihre Wirksamkeit gegen *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* im Boden geprüft. Bereits in den Vorversuchen zeigte sich aber, daß die Bodenverseuchung im Verhältnis zur Verbreitung des Erregers mit dem Pflanzgut eine untergeordnete Rolle spielt. Da aus England (BUXTON & ROBERTSON 1953) und Holland (BALKENENDE 1951) die gleichen Beobachtungen vorlagen, wurden die Versuche nicht fortgesetzt; dies um so mehr, als die Kosten für eine Bodenentseuchung im Freiland von der Gladiolenkultur keinesfalls getragen werden könnten.

Der Plan, die bei Narzissen im Ausland bewährte Heißwasserbeize auch bei Gladiolen anzuwenden, wurde fallengelassen, sobald die chemische Bekämpfung die ersten Erfolge gebracht hatte. ROISTACHER (1951) hat nachgewiesen, daß die Heißwasserbeize aus physiologischen Gründen auf große Schwierigkeiten stößt; die technischen Schwierigkeiten in der Praxis dürften nicht geringer sein. Sehr ungünstig sind auch die Aussichten für eine Verminderung des *Fusarium*-Befalls durch die Auswahl eines geeigneten Standortes. Zwar konnte in manchen Fällen beobachtet werden, daß der Befall in kühler Lage (z. B. im Schatten von Bäumen) geringer war als in der prallen Sonne; das gleiche traf für den Anbau im kalten Kasten zur Frühjahrszeit zu. Die Masse der Schnittgladiolen muß aber auf freien Flächen

im Sommer kultiviert werden, wo die Temperaturen für eine Infektion in jedem Jahre wenigstens zeitweise ausreichen. Die Bodenart ist insofern von Einfluß, als das Wurzelwachstum in humosem, lockerem Boden sehr gefördert wird. Gleichmäßige, jedoch nicht zu hohe Bodenfeuchtigkeit fördert das Wurzelwachstum. Einseitige Stickstoffdüngung kann nach McClellan & Stuart (1947) die *Fusarium*-Krankheit fördern. Auf eine ausgeglichene Düngung wäre also, wie bei jeder Kultur, auch bei Gladiolen zu achten.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß im wesentlichen nur die Auswahl gesunden Pflanzgutes und die chemische Pflanzgutbehandlung Erfolg versprechen.

4. Der Anbau resistenter Sorten

McCulloch hatte 1944 mitgeteilt, daß in USA eine ganze Anzahl Handelssorten der Gladiolen von *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* nicht befallen werde. Magie (1951) warnte später vor einer Überschätzung der Resistenz; er konnte zeigen, daß sich bei der gleichen Sorte Wurzel, Knolle und Blattbasis oft verschieden gegen eine *Fusarium*-Infektion verhalten. Durch die strikte Trennung von Welke und Knollenfäule verwirrten sich die Begriffe noch mehr; die Sorte Picardy, als extrem anfällig für Knollenfäule bekannt, war von McCulloch als resistent gegen die Welke bezeichnet worden. So blieb 1952 in Deutschland nichts anderes übrig, als die Resistenz von Wurzeln und Knollen der hier handelsüblichen Sorten zu prüfen.

Um gleichzeitig alle Teile der Pflanze der Infektion auszusetzen, sind im Sommer 1954 die 38 verfügbaren Sorten folgendermaßen geprüft worden: In zwei Mistbeetkästen wurde Ende Mai eine 20 cm hohe Schicht halbverrotteter, *fusarium*-verseuchter Gladiolenabfälle eingebracht und mit einer dichten Sporenaufschwemmung gründlich angefeuchtet. Sodann folgte eine 5 cm starke Schicht eines Gemisches von Komposterde und *fusarium*-bewachsenem Maisschrot. Auf jedes Fenster (1,50 m^2) entfielen 1200 ccm Maisschrot, gemischt aus vier verschiedenen *Fusarium*-Stämmen. Die Knollen wurden in diese Schicht nur flach eingedrückt, noch einmal kräftig mit Sporenaufschwemmung übersprüht und dann mit gewöhnlicher Komposterde bedeckt. Die Temperatur schwankte trotz Auflegens von Fenstern und ggf. Beschattung häufig zwischen 15 und 35 ° C. Später wurden die Fenster abgenommen, da die Außentemperatur gleichmäßig hoch blieb.

Folgende Sorten sind geprüft worden: Adinda, Amidonette, Prinzeß Beatrice, Bloemfontein, Boccherini, Benjamin Britten, Lukas Cranach, Douglas, Geheimrat Duisberg, General Eisenhower, Neues Europa, Dr. Fleming, Red Fox, Kölner Glocke, Goldstaub, Abu Hassan, Hollands Glory, Hopmans Glory, Harry Hopkins, Johann van Konijnenburg, Acca Laurentia, Majuba, Mansoer, Mrs. Marks Memory, Memorial Day, Marshal Montgomery, Alfred Nobel, Paul Rubens, Pactolus, Palet, Picardy, Schneeprinzessin, Silhouet, Kardinal Spellman, Johann Strauß, Modern Times, Tivoli, Lilac Wonder. Von jeder Sorte wurden 30 Knollen verwendet, zur

Hälfte auf beide Kästen verteilt. Das Pflanzen erfolgte in Querreihen von 20 cm Abstand, so daß auf jedes Fenster fünf Sorten zu 15 Knollen kamen und der Pflanzabstand etwa 20 × 9 cm betrug.

S a m e n aus freier Abblüte der Sorten Adinda, Bloemfontein, Red Fox, Han van Meegeren und Schneeprinzessin (sämtlich Ernte 1953) wurde in gleicher Weise auf elf Fenster eines dritten Kastens gesät und mit einer dünnen Torfmullschicht bedeckt.

Im Gesamtergebnis hemmte die Infektion alle Pflanzen im Vergleich zu nicht infizierten der gleichen Sorte deutlich. Allerdings zeigten sich gewisse Unterschiede: Die sechs Sorten Hopmans Glory, Mrs. Marks Memory, Pactolus, Palet, Kardinal Spellman und Lilac Wonder erholten sich rasch und brachten eine fast normale Blüte; bis auf Palet bildeten sie auch kräftige Knollen aus. Bei den übrigen Sorten zeigten sich ebenfalls noch Unterschiede. Da aber alle schließlich abstarben, ohne zur Blüte zu kommen, soll hier auf die Wiedergabe der Ergebnisse verzichtet werden. Der Umfang des geprüften Materials reicht für die Feststellung von graduellen Unterschieden nicht aus. Folgende bisher nicht genannte Sorten waren schon aus früheren Versuchen als anfällig bekannt: Allard Pearson, Atlantik, J. S. Bach, Biarritz, Dr. Dentz, Prinzeß Irene, Han van Meegeren, Regenbogen und Early Sunrise. Es ergibt sich, daß von 47 geprüften Sorten nur die sechs oben genannten hoch resistent gegen die vier benutzten *Fusarium*-Stämme waren; keine von diesen sechs gehört zu den beliebten Massenschnittsorten. Diese Sorten zeichnen sich lediglich dadurch aus, daß in der Knolle rasch kräftige Korkabgrenzungsgewebe gebildet werden und daß die Pflanze insgesamt über ein sehr gutes Regenerationsvermögen verfügt. Die Mutterknolle und die Wurzeln erster Stufe werden stark angegriffen; trotzdem entwickeln sie eine fast normale Tochterknolle und viele kräftige Wurzeln zweiter Stufe. Die Infektionsstellen an der Knolle sind nicht wie üblich schokoladenbraun und mittelmäßig fest, sondern tiefschwarz, besonders flach und fast so hart wie bei Lackschorf.

Bei den S ä m l i n g e n zeigten nur die Nachkommen von Schneeprinzessin eine deutliche Resistenz, alle andern Nachkommenschaften wurden völlig vernichtet. Schneeprinzessin selbst ist nicht sehr anfällig; die Sämlinge verhielten sich also wie ihre Muttersorte.

Die drei ebenfalls geprüften *Gladiolus*-Arten *G. primulinus* Bak., *G. psittacinus* Hook. und *G. tristis* L. erwiesen sich ausnahmslos als hochanfällig (siehe V. 3.).

Soweit sich bisher überblicken läßt, scheint die Lage in Deutschland die gleiche zu sein wie in England (ROBERTSON 1952, BUXTON & ROBERTSON 1953). Geeignete Ausgangssorten für eine Resistenzzüchtung sind vorhanden. Es ist jedoch fraglich, ob völlig resistente Sorten benötigt werden, wenn geeignete Bekämpfungsmaßnahmen ausreichend gesunde Bestände ergeben. Diese Frage bedarf sorgfältiger Prüfung, da die Resistenzzüchtung gegen *Fusarium* nach holländischen Erfahrungen (HUS 1954) noch große Schwierigkeiten zu überwinden hat und die Gladiolensorten infolge der Abhängigkeit von der herrschenden Mode vielfach nur kurze Zeit marktfähig bleiben. Daher

sollten zunächst die im Freiland bei mäßiger Infektion hinreichend widerstandsfähigen Sorten ausgewählt und deren Gedeihen durch Erprobung einer geeigneten unmittelbaren Bekämpfung der *Fusarium*-Krankheit möglichst weitgehend gesichert werden.

Zusammenfassung

1. Seit einigen Jahren tritt in Deutschland eine Gladiolenkrankheit auf, die im Ausland schon längere Zeit bekannt ist. Sie wird in der vorliegenden Arbeit als *Fusarium*-Krankheit bezeichnet, da sich die Hauptsymptome des Welkens und der Knollenfäule als Erscheinungsform e i n e s Krankheitsverlaufes erwiesen haben. Die Schäden durch die *Fusarium*-Krankheit in Westdeutschland und Berlin werden auf jährlich 1,3 Mill. DM geschätzt. Auf weitere Schädigungen durch Thrips, *Botrytis*-Fäule, Lackschorf, Hartfäule und Trockenfäule wird hingewiesen.

2. Die Besonderheiten der *Fusarium*-Krankheit unter den deutschen Anbauverhältnissen werden im Zusammenhang mit den bekannten Krankheitserscheinungen dargestellt.

3. Der Krankheitserreger, ein *Fusarium* aus der Sektion *Elegans*, ist aus Wurzeln, Knollen und Blattbasen kranker Gladiolen isoliert worden. Bei allen isolierten Stämmen variieren die taxonomisch wichtigen morphologischen Merkmale unter verschiedenen Umweltbedingungen und in verschiedenen Entwicklungsstadien. Auch im Stadium der „Hochkultur" sind zwischen den einzelnen Stämmen morphologische Unterschiede vorhanden, die jedoch mit physiologischen Unterschieden nicht nachweisbar gekoppelt sind. Alle Stämme können sowohl eine Knollenfäule als auch eine Tracheomykose hervorrufen; sie haben die gleichen Temperaturansprüche, jedoch nicht die gleiche Pathogenität und die gleiche Wirtsbreite.

Von Gladiolen isolierte Stämme rufen auch an anderen Iridaceen ähnliche Krankheitssymptome hervor. An *Crocus, Freesia* und *Tritonia* sind in der Natur *Fusarium*-Stämme gefunden worden, die den Gladiolen-Stämmen ähneln und ebenfalls verschiedene Iridaceen infizieren.

4. Die isolierten Erreger werden trotz gewisser morphologischer und physiologischer Mannigfaltigkeit einheitlich zu *Fusarium oxysporum* (Schl.) f. *gladioli* (Massey) Snyder und Hansen gestellt. Einige grundsätzliche taxonomische Fragen werden erörtert, besonders solche, die sich aus der statistischen Bearbeitung der Sporenmessungen ergeben.

5. In erster Linie geht die *Fusarium*-Infektion vom Pflanzgut aus; die Bodeninfektion spielt eine untergeordnete Rolle. Die Ausprägung der Symptome hängt von der Witterung, der Sorte und dem Grad der Verseuchung eines Bestandes ab.

6. Die Aussortierung der sichtbar kranken Knollen ist die Grundlage für die *Fusarium*-Bekämpfung; für ihre Durchführung werden praktische Hinweise gegeben.

7. Da auch äußerlich gesunde Knollen mit Sporen verunreinigt sein können, sollte alles Pflanzgut vorbeugend gebeizt werden. Mehrere handelsübliche Fungizide sind auf ihre Pflanzenverträglichkeit und Wirksamkeit geprüft worden. Die einzelnen Gladiolensorten sind gegen Chemikalien verschieden empfindlich. Hg-haltige Naß- und Trockenbeizen, Formaldehyd und ein Fe-carbamat haben in einjährigen Versuchen gut gegen *Fusarium* gewirkt. Eine befriedigende Wirkung auf s t a r k erkrankte Knollen ist von k e i n e m Mittel zu erwarten.

8. Gladiolen sollen erst nach Ablauf von vier Jahren wieder auf die gleiche Fläche gepflanzt werden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß auch andere Iridaceen als Wirte für *Fusarium oxysporum* in Frage kommen.

9. Die Handelssorten der Gladiolen sind nicht gleich anfällig für *Fusarium*, doch ist keine völlig resistente Sorte gefunden worden. Eine Resistenzzüchtung wäre voraussichtlich möglich, dürfte aber aus wirtschaftlichen Gründen auf Schwierigkeiten stoßen.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden im Institut für Mykologie der Biologischen Bundesanstalt in Berlin-Dahlem durchgeführt. Für die vielfachen Anregungen und die hilfsbereite Unterstützung spreche ich meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Prof. Dr. H. RICHTER und Herrn Prof. Dr. H. MÜLLER, meinen herzlichen Dank aus. Auch Herrn Prof. Dr. E. BÖHNERT sei an dieser Stelle für wertvolle Hinweise gedankt. Für die Anfertigung der zahlreichen Abbildungen bin ich Herrn E. SCHÄLOW zu besonderem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis

1. BALD, J. G., 1951: Some experiments on curing and dipping gladiolus corms. Phytopathology **41**, 935.
2. — —, 1953: Control of disease by heat-curing and dipping gladiolus corms. Phytopathology **43**, 141—155.
3. BALKENENDE, P. G., 1951: Handleiding voor de teelt van gladiolen. Imperator, Lisse.
4. BELLARD, J. K., 1938: Note on "glad" core rot. Flor. Rev. **72**, 14.
5. BUXTON, E. W., 1953: Variation of *Fusarium oxysporum*. Nature **172**, 4387, 989.
6. — —, 1954: Heterocaryosis and variability in *Fusarium oxysporum* f. *gladioli* SNYDER and HANSEN. J. gen. Microbiol. **10**, 71—84.
7. — — and ROBERTSON, N. F., 1953: The *Fusarium* yellows disease of gladiolus. Plant Pathology **2**, 61—64.
8. CARNE, W. M., 1927: Additions to the plant diseases of southwestern Australia. J. Roy. Soc. West. Austr. **14**, 23—28.
9. † CARRERA, C. J. M., 1949: La cura o tratamiento prealmacenaje de los bulbos de gladiolos. Idia **2**, 24 (Hort. Abstr. **20**, 1950, 3083).
10. CIFFERI, R., 1949: Alcune malattie e anormalita dei gladioli osservati in Italia. Notiz. Malatt. Piante 17—22.
11. CONNERS, J. L., 1938: 18th annual report of the Canadian Plant Disease Survey (Rev. appl. Mycol. **18**, 1939, 724).
12. † CREAGER, D. B., 1933: *Fusarium* basal rot of bulbous Irises. Phytopathology **23**, 7.
13. — —, 1944: Report of gladiolus disesase control studies. Gladiolus **19**, 112—125 (Rev. appl. Myc. **23**, 1944, 300).
14. † — —, 1945: Saving Picardy bulbs by chemical treatments. Glad. Suppl. **9**, 2—3 (Rev. appl. Myc. **24**, 1945, 418).
15. DIMOCK, A. W., 1941: New diseases challenge gladiolus culture. Canad. Glad. Soc. (Guelph.) Ann. 60—64 (zit. n. MCCULLOCH).

16. Dodge, B. O., and Rickett, H. W., 1948: Diseases and pests of ornamental plants. Ronald Press Cy., New York, 2. Aufl.
17. Gagnotto, Anna V., 1953: Osservazioni su *Fusarium oxysporum* Schl. var. *gladioli* Massey e prove di lotta contro essa. Ann. Sper. Agr. **7**, 807—825.
18. Gerlach, W., 1954: Untersuchungen über die Welkekrankheit des Alpenveilchens. Phytopath. Z. **22**, 125—176.
19. Hansen, H. N., and Smith, R. E., 1932: The mechanism of variation in imperfect fungi: *Botrytis cinerea*. Phytopathology **22**, 953—964.
20. Harter, L. L., 1939: Influence of light on the lenght of conidia in certain species of *Fusarium*. Am. J. Bot. **26**, 234—243.
21. — —, 1941: The personal element and light as factors in the study of the genus *Fusarium*. J. Agr. Res. **62**, 97—107 (Rev. appl. Myc. **20**, 1941, 597—598).
22. Hus, Ir. P., 1954: Mündliche Mitteilung, Bad Neuenahr.
23. Johann, H., 1923: Influence of temperature on the morphology of *Fusarium* spores. Phytopathology **13**, 51.
24. Löbner, M., 1924: Uspulun zum Beizen erkrankter Gladiolenzwiebeln. Nachr. landw. Abt. Farbf. Bayer, 83—85.
25. McClellan, W. D., 1945: Pathogenicity of the vascular *Fusarium* of Gladiolus to some additional Iridaceous plants. Phytopathology **35**, 921—930.
26. — —, 1948: Effect of *Fusarium* isolates on two gladiolus varieties. Phytopathology **38**, 567.
27. ——, and Marshall, B. H., 1950: Effect of temperature on the development of some diseases of *Gladiolus, Narcissus* and *Lilium*. Phytopathology **40**, 872.
28. — — and Stuart, W. D., 1947: The influence of nutrition on *Fusarium* basal rot of *Narcissus* and on *Fusarium* yellows of Gladiolus. Amer. J. Bot. **34**, 88—93.
29. McCulloch, Lucia, 1944: A vascular disease of Gladiolus caused by *Fusarium*. Phytopathology **34**, 263—287.
30. † Magie, R. O., 1949/50: Controlling Gladiolus corm diseases. In: Ann. Rept. Fla. Agr. Exp. Stat., 129—130 (Hort. Abstr. **22**, 1952, 794).
31. † — —, 1951: Limitations of resistance to Gladiolus *Fusarium* disease. Glad. Magazin **15**, 36—38 (Rev. appl. Myc. 31, 1952, 435).
32. Marshall, B. H. jr., 1953: Relation of wound periderm in Gladiolus corms to penetration by *Fusarium oxysporum* f. *gladioli*. Phytopathology **43**, 425—431.
33. Massey, L. M., 1922: *Fusarium* rot of Gladioli. Phytopathology **12**, 53.
34. — —, 1926: *Fusarium* rot of Gladiolus corms. Phytopathology **16**, 509—524.
35. Miller, J. J., 1946: Cultural and taxonomic studies on certain *Fusaria*. I: Mutation in culture; II: The taxonomic problem in *Fusarium* with particular reference to section *Elegans*. Canad. J. Res. Sect. C **24**, 188—223.
36. Miller, H. N., and Magie, R. O., 1950: Control of *Fusarium* storage rot of Gladiolus corms. Phytopathology **40**, 209—212.
37. Moore, W. C., 1939: Diseases of bulbs. Bull. Min. Agr. 117, London, H. M. Stationary Office.
38. — —, 1949: 2. Auflage.
39. Mudra, A., 1949: Anleitungen zur Durchführung und Auswertung von Feldversuchen nach neueren Methoden. Hirzel, Leipzig.
40. Nelson, R., 1938: *Fusarium* yellows of Gladiolus. Phytopathology **28**, 17.
41. Neporoshny, G. D., 1953: *Gladiolus*. Bauernverlag, Berlin.
42. N. N., 1926: Mycological Investigations in: Ann. Rept. Exp. & Res. Stat. Chestnut, Herts. **12** (zit. n. McCulloch).
43. N. N., 1933: Core rot of Gladioli. Flor. Rev. **71**, 1842, 27 (zit. n. McCulloch).
44. † N. N., 1952: Gladiolus yellows in New South Wales. Agr. Gaz. NSW. **63**, 85—87 (Hort. Abstr. **22**, 1952, 2878).
45. Oswald, J. W., 1949: Cultural variation, taxonomy and pathogenicity of *Fusarium* species associated with cereal foot rots. Phytopathology **39**, 359—376.

46. Palm, E. T., 1952: Effects of certain mercurial fungicides on Gladiolus plants. Phytopathology **42**, 518.
47. Pape, H., 1936: Die Praxis der Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen der Zierpflanzen. 2. Aufl. Paul Parey, Berlin.
48. Petri, L., 1940: Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1939. Boll. Staz. Pat. Veg. Roma **20**, 1—70 (zit. n. Gagnotto).
49. Pryal, W. A., 1909: Disease among gladioli. Rural New Yorker **68**, 1009 (zit. n. McCulloch).
50. † Robertson, N., 1952: Further investigations of the *Fusarium* yellows disease of Gladiolus. Brit. Glad. Soc. (?) **7** (Hort. Abstr. **22**, 1952, 2879).
51. Roistacher, C. N., 1951: Hot-water treatment of Gladiolus cormels. Phytopathology **41**, 943.
52. † Saravi Cisneros, R., 1946: Enfermedades de los bulbos de Gladiolo en almaceniamento. Ann. Rur. B. Aires **14**, 209—311 (Rev. appl. Myc. **26**, 1947, 548).
53. Schalt, W., 1954: Untersuchungen über Umfang, Wert und Struktur des Zierpflanzenanbaus am Beispiel von Westberlin. Mitt. Klosterneuburg IV B/2, 70—84.
54. — —, 1954 a: Mündliche Mitteilung, Berlin-Dahlem.
55. Schneider, R., 1953: Mündliche Mitteilung, Berlin-Dahlem.
56. Scurti, J., 1952: Contributo alla conoscenza del giallume dei gladioli. Ann. Sper. Agr. **6**, 1705—1714.
57. Sherbakoff, C. D., 1947: Plant-disease relation and classification of *Fusaria*. Phytopathology **37**, 20—21.
58. † Simonds, A. O., 1949: Chemical treatment effects on Gladiolus. J. Colo.-Wyo. Acad. Sci. **4**, I, 50 (Rev. appl. Myc. **29**, 1950, 563).
59. Snyder, W. C. and Hansen, H. N., 1939: Culture methods in relation to *Fusarium* identification. Phytopathology **29**, 827.
60. — — and — —, 1940: The species concept in *Fusarium*. Amer. J. Bot. **27**, 64—67.
61. — — and — —, 1941: The effect of light on taxonomic characters in *Fusarium*. Mycologia **33**, 580—591.
62. Taubenhaus, J. J. and Ezekiel, W. N.,1933: *Fusarium* wilt and corm rot of Freesias. Bot. Gaz. **95**, 128—142.
63. Tuinbouwgids, 1953: (Samenstelling van de Directie van de Landbouw.) Den Haag, 270; 428.
64. van Poeteren, N., 1928: Verslag over de werkzaamheden van den plantenziektenkundigen dienst in het jaar 1926. Versl. P. D. Wageningen **51**.
65. † — —, 1937/38: Verslag .... 1936—1937. Versl. P. D. Wageningen **87**, **88** (Rev. appl. Myc. **18**, 1939, 153).
66. † Verneau, R., 1949: Contributo alla conoscenza delle malattie di piante ornamentali. Ric. Ossvz. Divulg. Fitopat. Campania ed Mezzogiorno (Portici) **2**, 1—18 (Rev. appl. Myc. **30**, 1951, 107).
67. Wollenweber, H. W., 1931: *Fusarium*-Monographie. Fungi parasitici et saprophytici. Z. Parasitenkunde **3**, 269—516.
68. — —, 1943: *Fusarium*-Monographie II. Zbl. Bact. II, **106**, 104—135 und 171—202.
69. — —, und Reinking, O. A., 1935: Die *Fusarien*. Paul Parey, Berlin.
70. † Yoder, D. M., 1949: Bulb diseases. N. Y. State Flower Growers Bulletin **49**, 4—5 (Rev. appl. Myc. **29**, 1950, 307).

Die mit † gekennzeichneten Arbeiten lagen nur im Referat vor.

Aus der Eidg. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil
Direktor: Prof. Dr. F. Kobel

Über die gegenseitigen Beziehungen zwischen Gurkenmosaik und Gurkenmehltau

(Vorläufige Mitteilung)

Von

S. Blumer, L. Stalder und A. Harder

Mit 4 Abbildungen

In unseren Versuchen mit dem Gurkenmosaik 1 machte sich gelegentlich der Gurkenmehltau (*Erysiphe polyphaga* Hamm.) störend bemerkbar. Dies veranlaßte uns, die Frage einer gegenseitigen Beeinflussung von Virus und Mehltau näher zu untersuchen. Die Versuche sollen später fortgesetzt werden. Da wir uns aber in nächster Zeit anderen Problemen zuwenden müssen, erscheint eine vorläufige Zusammenstellung der bisherigen Versuche gerechtfertigt.

Zunächst zeigte es sich, daß der Mehltau viel leichter auf gesunde Gurken übergeht als auf mosaikkranke Pflanzen. Auch die Konidienbildung scheint auf viruskranken Gurken gehemmt zu sein. Auf Blättern mit systemischer Virusinfektion trat der Mehltau auf den gelben Mosaikflecken viel schwächer auf als auf dem normal grünen Gewebe (Abb. 1). Daß es sich dabei nicht um eine optische Täuschung handelte, geht daraus hervor, daß in den Mosaikflecken die Zahl der Haustorien stark reduziert ist. Oft sind diese Bildungen im kranken Gewebe kaum nachzuweisen.

Wie diese Tatsache zu erklären ist, wissen wir noch nicht. Es kann sich um eine erhöhte Mehltauresistenz des viruskranken Gewebes handeln, da nach Porter (7) im Bereiche der Mosaikflecken bedeutende histologische und zytologische Veränderungen auftreten. In jungen Gurkenblättern wird die Zellteilung unterdrückt, die Zellen werden vorzeitig vakuolisiert, und es entwickeln sich schon früh Interzellularräume im Mesophyll. In älteren Blättern ist das Gewebe der Mosaikflecken nicht in normaler Weise differenziert, die Plastiden sind gehemmt und teilweise zerstört. Es wäre also denk-

bar, daß durch diese Veränderungen auch die Anfälligkeit der Gewebe gegen den Mehltau herabgesetzt würde. Ebenso besteht die Möglichkeit einer Erhöhung der Resistenz durch Stoffwechselprodukte, die als Folge des Virusbefalles in der Pflanze entstanden sind.

Anderseits ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß der Mehltaubefall durch das Virus selbst gehemmt wurde. Die Untersuchungen von SILL (8) weisen darauf hin, daß die Viruskonzentration im krankhaft veränderten Blattgewebe der Mosaikflecken höher ist als in den benachbarten grünen Partien des Blattes.

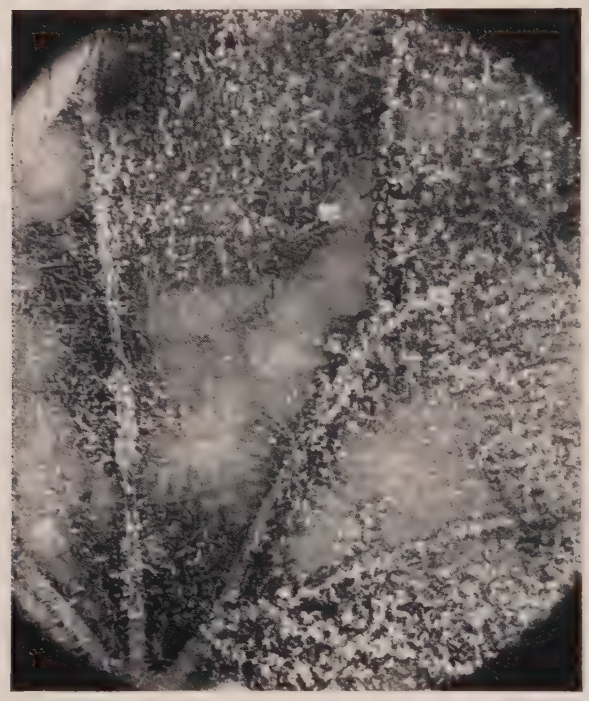


Abb. 1. Hemmung des Mehltaus auf den Mosaikflecken

Auf Grund unserer Beobachtungen läßt sich lediglich die hemmende Wirkung eines bestehenden Virusbefalles gegenüber der Infektion durch Mehltau feststellen, wobei der Mechanismus dieser Hemmung vorläufig ungeklärt bleibt. Da die Lösung dieser Frage auch versuchstechnisch bedeutenden Schwierigkeiten begegnet, kehrten wir zunächst die Problemstellung um und suchten nachzuweisen, ob auch eine Hemmung im entgegengesetzten Sinne besteht, d. h. ob durch Mehltaubefall eine Virusinfektion gehemmt werden kann. Es sind zwar seit STANLEY (9) schon so viele Substanzen, hauptsächlich auch Stoffwechselprodukte von Pilzen (UTECH und JOHNSON, 11) bekannt, die hemmend auf Virusinfektionen wirken, daß es überflüssig scheinen könnte, diese Zahl noch weiter zu vermehren. In den bisherigen Versuchen benützte man hauptsächlich Stoffwechselprodukte saprophytischer Pilze, die unter natürlichen Bedingungen überhaupt nie mit einem Virus in Beziehung treten. In unserem Falle handelt es sich um zwei Organismen (wenn diese Bezeichnung für ein Virus zulässig ist), die nebeneinander den gleichen Lebensraum besiedeln, und zudem ist der Mehltau ein echter Parasit, der wie das Virus auf das lebendige Substrat der Wirtspflanze angewiesen ist. Endlich mußten wir in unseren Versuchen auch andere Methoden verwenden als bisher bei derartigen Versuchen gebräuchlich waren, weil sich die elegante und schnelle Methode der Lokalläsionen für unsere Objekte nicht eignete.

1. Hemmung der Virusinfektion durch eine bestehende Mehltauinfektion

Nachdem verschiedene Vorversuche gezeigt hatten, daß die Virussymptome an mehltaubefallenen Pflanzen bedeutend später auftraten, wurde diese Frage in zwei größeren Versuchen geprüft. Da die Ergebnisse sehr gut übereinstimmten, soll hier nur der eine Versuch besprochen werden.

Am 6. November wurden die Kotyledonen von 20 Gurkenpflanzen mit Mehltau infiziert, während eine andere gleich große Gruppe von Pflanzen durch Behandlung mit Kolloidschwefel vor Mehltauinfektion geschützt wurde. Da zu dieser Jahreszeit die Belichtungsverhältnisse zu wünschen übrigließen, dauerte es zwölf Tage, bis die Kotyledonen einen starken Mehltaubefall aufwiesen. Am 18. November wurden beide Gruppen mit Preßsaft von mosaikkranken Blättern infiziert, und zwar durch Einreiben mit einem steifen Pinsel auf der Oberseite der Kotyledonen. Hier wie in den anderen Versuchen wurde darauf geachtet, daß die Virusinfektion zur Zeit erfolgte, wo das erste Laubblatt entfaltet, aber noch nicht vollständig ausgewachsen war. Unter diesen Bedingungen sind die ersten Symptome der systemischen Infektion nach vier bis sechs Tagen zu erwarten. Die Lokalläsionen auf den Kotyledonen bestehen meistens aus undeutlich begrenzten Flecken oder Ringen. Da sie gelegentlich überhaupt nicht auftreten, können sie nicht als Kriterium für den Befall verwertet werden. Als solche dienten die ersten Mosaikflecke der systemischen Infektion auf den Laubblättern.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Während in diesem Versuche nach elf Tagen alle Kontrollpflanzen mit Virus befallen waren, zeigten sich zu dieser Zeit erst an zwei mehltaubefallenen Pflanzen Virussymptome. Beim Abschluß des Versuches, 21 Tage nach der Infektion, waren in dieser Gruppe noch immer nur fünf befallene Pflanzen. Eine schon zum Ausbruch gekommene Mehltauinfektion wirkte also deutlich hemmend auf das Gurkenmosaik. Es konnte in diesem Versuche beobachtet werden, daß bei elf Pflanzen der Gruppe, die mit Mehltau und Virus infiziert worden war, die Kotyledonen schon vier Tage nach der Virusinfektion abgestorben waren. Es lag deshalb nahe, das Ausbleiben der systemischen Infektion bei diesen Pflanzen auf die Schädigung der Kotyledonen zurückzuführen. Diese Annahme konnte aber nach den Ergebnissen der späteren Versuche nicht aufrechterhalten werden.

Tabelle 1

Hemmung der Virusinfektion durch eine zwölf Tage alte Mehltauinfektion

Tage nach der Virusinfektion	Zahl der Pflanzen mit Virussymptomen	
	Kontrolle, nur mit Virus infiziert	Mehltaubefallene Pflanzen, mit Virus infiziert
5	10	0
6	16	0
7	16	0
9	17	0
11	20	2
12		4
14		4
16		5

In einem zweiten Versuche wurde die Zeitspanne zwischen Mehltau- und Virus-

infektion auf sieben Tage reduziert. Zur Zeit der Virusinfektion waren eben gerade die ersten Mehltaurasen sichtbar. Die Ergebnisse dieses mit 30 Pflanzen durchgeführten Versuches weichen in keiner Weise von den vorher besprochenen Resultaten ab (Abb. 2). Auch hier treten bei kombinierter Infektion die Virussymptome erst an einzelnen Pflanzen auf, wenn schon sämtliche Kontrollpflanzen befallen sind. Beim Abschluß des Versuches waren von den 30 Pflanzen nur fünf dieser Gruppe viruskrank.

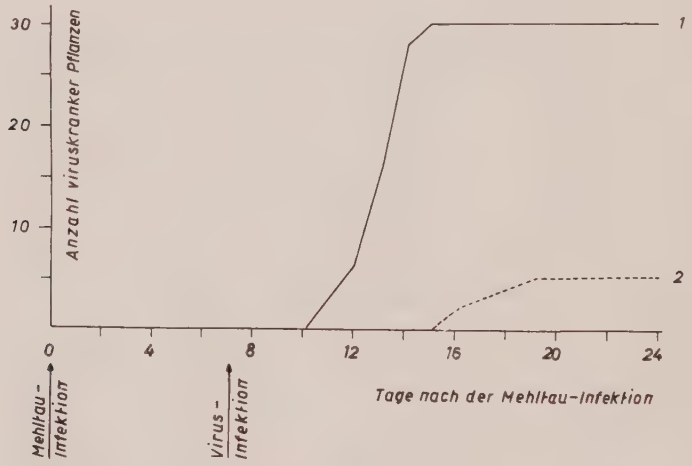


Abb. 2. Hemmung der Virusinfektion durch einen bestehenden Mehltaubefall.
1: ohne Mehltau (Kontrolle)
2: mit Mehltau

Die Ergebnisse eines weiteren Versuches, der allerdings nur mit einer kleinen Zahl von Pflanzen durchgeführt wurde, zeigen, daß die hemmende Wirkung des Mehltaubefalles um so deutlicher wird, je größer die Zeitspanne zwischen Mehltau- und Virusinfektion ist. Wir werden diese Frage in weiteren Versuchen prüfen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß sich die beobachtete Hemmung des Virusbefalles durch Mehltau experimentell bestätigen läßt. Dagegen geht aus den besprochenen Versuchen nicht hervor, ob diese Hemmung durch eine Einwirkung auf die Nährpflanze oder auf das Virus selbst zustande kommt.

2. Versuche in vitro

Auf Grund der ersten Versuche konnte angenommen werden, daß der Mehltau eine virushemmende Substanz bildet. Nähere Anhaltspunkte über den Mechanismus dieser Hemmung konnten jedoch nur durch Versuche in vitro gewonnen werden. Diese Versuchsanordnung gibt uns die Möglichkeit, den Einfluß der Wirtspflanze wenigstens zum Teil auszuschalten.

a) Nachweis der virushemmenden Wirkung von Konidiensuspensionen

Bei der überaus starken Konidienproduktion des Gurkenmehltaus bereitet es keine Schwierigkeiten, genügende Mengen von Konidien zu gewinnen, um die Frage zu klären, ob der Pilz virushemmende Stoffwechsel- oder Abbauprodukte bildet. Ein erster Versuch wurde in folgender Weise durchgeführt:

Der Mehltaubelag stark befallener Gurkenblätter wurde vorsichtig über einer Glasschale abgeklopft. Von diesem Material, das aus lebenden und abgestorbenen Mehltaukonidien bestand, wurden 0,1 g in 5 ccm dest. Wasser gebracht und zunächst für 24 Stunden in den Kühlschrank (etwa 3 ° C) gestellt. Hierauf wurde diese Konidiensuspension dem Preßsaft aus mosaikkranken Gurkenblättern (0,5 g Blattmaterial in 5 ccm Wasser zerrieben) beigefügt und abermals für 48 Stunden in den Kühlschrank gestellt.

Als Kontrolle diente die gleiche Menge Preßsaft, der an Stelle der Konidiensuspension 5 ccm dest. Wasser beigefügt wurde. Auch dieses Material wurde für 48 Stunden im Kühlschrank gehalten.

Nach dieser Zeit wurden die Kotyledonen von je 30 Gurkenpflanzen im Einblattstadium mit dem Pinsel infiziert. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

In der Gruppe der mit Konidiensuspension behandelten Pflanzen stieg die Zahl der kranken Pflanzen auch in den folgenden Tagen nicht weiter an. Die Ergebnisse decken sich vollständig mit dem in Tabelle 1 dargestellten Versuch. Der Zusatz einer Konidiensuspension wirkt sich genau gleich aus wie eine bestehende Mehltauinfektion der Versuchspflanzen, nämlich in einer geringeren Befallshäufigkeit und in einem langsameren Verlauf der systemischen Infektion. Auf Grund dieser Übereinstimmung ist anzunehmen, daß durch die Mehltauinfektion keine Erhöhung der Resistenz gegenüber dem Gurkenmosaik verursacht wird. Die Hemmung muß vielmehr auf eine direkte Inaktivierung des Virus zurückgeführt werden. Die von uns verwendete Konidiensuspension von *Erysiphe polyphaga* läßt sich demnach ohne weiteres mit den virushemmenden Stoffwechselprodukten zahlreicher saprophytischer Pilze vergleichen.

Tabelle 2

Wirkung einer Suspension von Mehltaukonidien auf die Virusinfektion

Tage nach der Virusinfektion	Zahl der Pflanzen mit Virussymptomen	
	Kontrolle	Konidiensuspension
4	15	0
5	15	0
6	24	0
7	30	8
8		9
9		13

b) Die Wirkung von Konidiensuspensionen bei verschiedenen Einwirkungszeiten

Wenn die Hemmung der Virusinfektion durch eine Inaktivierung des Virus in vitro erfolgt, so kann man erwarten, daß sie stärker werden muß, wenn der Preßsaft vor der Infektion längere Zeit mit der Sporensuspension in Kontakt bleibt. Zur Klärung dieser Frage wurde der folgende Versuch durchgeführt:

In fünf Fläschchen wurden je 0,1 g Mehltaukonidien eingefüllt und in den Kühlschrank gebracht. Ferner wurden in fünf, mit feuchtem Filtrierpapier ausgekleideten Petrischalen Blattstücke von je 3 g möglichst junger und gleichmäßig erkrankter Gurkenblätter ebenfalls bei 3 ° C aufbewahrt. Zu verschiedenen Zeiten, nämlich 72, 48, 24, 8 und 0 Stunden vor der Infektion wurde das viruskranke Blattmaterial einer Schale im Mörser zerrieben und mit 15 ccm dest. Wasser versetzt. Gleichzeitig wurde einem Fläschchen mit Mehltaukonidien 5 ccm dest. Wasser beigefügt und damit eine Suspension hergestellt, der dann noch 5 ccm Preßsaft beigegeben wurde. Die Kontrollfläschchen erhielten 5 ccm Preßsaft und an Stelle der Konidiensuspension 5 ccm dest. Wasser. Es wurde damit die gleiche Virusverdünnung erzielt wie mit der Konidiensuspension. Die Infektion erfolgte gleichzeitig an je 25 Pflanzen von gleichem Alter (18 Tage) und gleichem Entwicklungszustand, die nebeneinander im gleichen Gewächshaus bei 20 bis 25 ° C gehalten wurden.

Bei den Kontrollen konnte festgestellt werden, daß eine dreitägige Aufbewahrung des Preßsaftes bei 3 ° C die Infektiosität des Virus in keiner Weise beeinflußte. Aus diesem Grunde können wir uns in der Zusammenstellung der Ergebnisse (Tabelle 3) auf eine Kontrolle beschränken, die den Mittelwert der fünf Einzelversuche (125 Pflanzen) darstellt.

Tabelle 3

Infektionshäufigkeit bei verschiedener Einwirkungszeit einer Konidiensuspension in vitro

Tage nach der Infektion	Zahl der Pflanzen mit Virussymptomen					
	Kontrolle ohne Konidiensuspension	Einwirkungszeit der Konidiensuspension				
		0 Stunden	8 Stunden	24 Stunden	48 Stunden	72 Stunden
4	14	0	0	0	0	0
5	25	10	6	5	2	1
6		19	14	10	9	7
7		23	19	13	11	11
8		23	19	13	11	11
10		23	19	15	11	11

Die Ergebnisse dieses Versuches lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

Eine leichte Hemmung der Infektion zeigt sich schon, wenn Preßsaft und Konidiensuspension unmittelbar vor der Infektion zusammengebracht

werden. Es handelt sich dabei hauptsächlich um eine Verzögerung im Auftreten der Virussymptome, die am vierten und fünften Tage nach der Infektion sehr deutlich zum Ausdruck kommt. Später wird der Unterschied gegenüber der Kontrolle undeutlicher, und nach zehn Tagen zeigten nur zwei Pflanzen dieser Gruppe keine Symptome.

Bei den übrigen Gruppen dieses Versuches zeigt sich die hemmende Wirkung der Konidiensuspension um so deutlicher, je länger die Einwirkungszeit dauerte. Wie Abb. 3 zeigt, ist die Hemmung fünf Tage nach der Infektion am stärksten, sie kann jedoch auch nach zehn Tagen nicht überwunden werden.

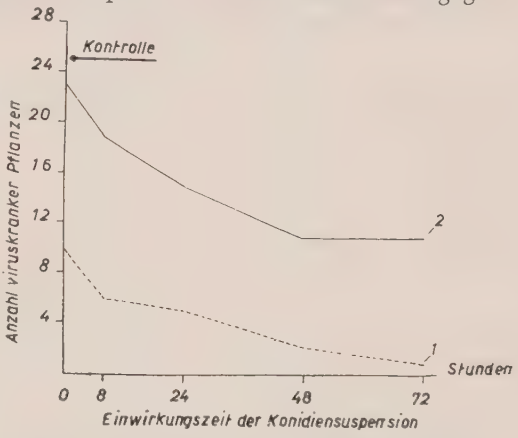


Abb. 3. Hemmung der Virusinfektion bei verschiedenen Einwirkungszeiten einer Konidiensuspension in vitro.
1: am 5. Tage nach der Virusinfektion
2: am 10. Tage nach der Virusinfektion

In anderen Versuchen konnten wir gelegentlich schon nach zweitägiger Einwirkung eine vollständige Hemmung beobachten. Auf alle Fälle sprechen diese Versuchsergebnisse dafür, daß das Virus in vitro durch eine in der Konidiensuspension enthaltene Substanz in verschiedenem Grade inaktiviert wird.

c) Wirkung der Konidiensuspension bei verschiedener Verdünnung des Preßsaftes

Man kann sich vorstellen, daß diese Inaktivierung des Virus im Preßsaft auf adsorptive Vorgänge zurückzuführen ist. Die Konzentration des Hemmstoffes in der Konidiensuspension reicht aber nicht für eine vollständige und sofortige Inaktivierung aus. Wenn die Verhältnisse wirklich so liegen, so muß sich eine Verdünnung des Preßsaftes gleich auswirken wie die Verlängerung der Einwirkungszeit. Die gleiche Menge Konidiensuspension muß um so stärker hemmend wirken, je verdünnter der Preßsaft ist.

In dieser Richtung wurde bis jetzt nur ein Versuch mit zehn Pflanzen je Gruppe durchgeführt. Jede Verdünnung des ursprünglichen Preßsaftes erhielt die gleiche Menge einer Konidiensuspension (3 ccm, entsprechend etwa 0,06 g Mehltaukonidien). Die Kontrollen erhielten die gleiche Menge dest. Wasser. Der als Ausgangsmaterial dienende Preßsaft wurde auf $^1/_{10}$, $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ verdünnt und vor der Infektion 24 Stunden bei 3 ° C aufbewahrt. Es zeigte sich, daß die stärkste Verdünnung für unseren Versuch ausscheiden mußte, weil auch ohne Zusatz von Konidiensuspensionen von zehn infizierten Pflanzen nur eine Virussymptome aufwies. Die Ergebnisse mit den beiden anderen Verdünnungen sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

Wirkung der Konidiensuspension bei verschiedener Verdünnung des Preßsaftes

Tage nach der Infektion	Zahl der Pflanzen mit Virussymptomen					
	Preßsaft unverdünnt		Verdünnung 1/10		Verdünnung 1/100	
	Kontrolle	mit Susp.	Kontrolle	mit Susp.	Kontrolle	mit Susp.
4	3	0	2	0	2	0
5	10	0	9	0	2	0
6		3	9	1	3	0
7		3	10	1	4	0
8		3		1	4	0
9		3		1	4	0

Dieser orientierende Versuch zeigt, daß die gleiche Menge Konidiensuspension bei zunehmender Verdünnung des Preßsaftes stärker hemmt. Bei der Verdünnung 1/10 wird die Wirkung der Konidiensuspension auf das Dreifache erhöht, und bei der Verdünnung 1/100 treten überhaupt keine Virussymptome mehr auf; die hier vorhandene Virusmenge konnte offenbar durch den Hemmstoff vollständig inaktiviert werden, was sich mit der Annahme einer Adsorption sehr gut vereinbaren läßt. Im übrigen zeigt dieser Versuch, daß der Preßsaft, der als Ausgangsmaterial diente, bei einer Verdünnung von 1/100 auch ohne Zusatz von Konidiensuspension nicht mehr voll wirksam war.

3. Wirkung der Konidiensuspension in vivo

Die Ergebnisse der bisher besprochenen Versuche weisen ohne Ausnahme auf eine Inaktivierung des Gurkenmosaiks durch Suspensionen von Mehltaukonidien in vitro hin. Sie bringen aber noch keinen Beweis, daß die infektionshemmende Wirkung nicht auch indirekt, durch eine Beeinflussung der Nährpflanze erfolgen könnte. Der Nachweis für eine solche Wirkung müßte erbracht werden, indem man Konidiensuspensionen und Preßsaft getrennt auf die Kotyledonen bringt. Zeigt sich in einem derartigen Versuch eine hemmende Wirkung auf den Virusbefall, so kann es sich immer noch um die Wirkung eines direkten Kontaktes mit der in das Blattgewebe eingedrungenen hemmenden Substanz oder aber um eine physiologische Umstimmung der Blattzellen handeln. Tritt aber keine Hemmung ein, so liegen keine Anhaltspunkte für diese zweite Möglichkeit vor.

Wir führten diese Versuche in der Weise durch, daß wir Kotyledonen von 18 Tage alten Gurkenpflanzen auf der Oberseite mit Preßsaft, auf der Unterseite mit Konidiensuspension einrieben. Als Kontrolle dienten Pflanzen, deren Kotyledonen auf der Oberseite mit Preßsaft, auf der Unterseite mit Wasser behandelt wurden und anderseits solche, die auf der Oberseite Preßsaft + Konidiensuspension, auf der Unterseite Wasser erhielten. Dieses Gemisch wurde 24 Stunden vor der Infektion hergestellt und während dieser Zeit bei 3 ° C aufbewahrt.

Die Ergebnisse dieses Versuches waren eindeutig:

Oberseite:	Unterseite:	
a) Preßsaft	Konidiensuspension:	Normale Infektion. Nach sechs Tagen zeigten alle 20 Pflanzen starke Symptome
b) Preßsaft	Wasser:	wie a)
c) Preßsaft + Konidiensuspension	Wasser:	Stark gehemmte Infektion. Nach sechs Tagen erst ein Fünftel der Pflanzen befallen und nach zwölf Tagen erst die Hälfte.

Wo in diesen Versuchen der Preßsaft auf die Unterseite der Kotyledonen eingerieben wurde, ergab sich in allen Fällen eine Verzögerung der Infektion um einen Tag, unabhängig davon, ob die Oberseite Konidiensuspensionen oder Wasser erhielt. Eine Hemmung trat auch hier nur auf, wo das Gemisch Preßsaft + Konidiensuspension verwendet wurde.

Dieser Versuch ergab also keine Anhaltspunkte für eine indirekte Hemmung durch eine Umstimmung in der Physiologie des Blattes. Auch wenn die Konidiensuspension 8 oder 24 Stunden vor der Virusinfektion eingerieben wurde, zeigte sich in keinem Falle eine Hemmung in der Ausbildung der Virussymptome.

Man könnte vielleicht hier geltend machen, daß es sich bei der wirksamen Substanz um einen hochmolekularen Körper handle, der nur langsam oder überhaupt nicht in das Blattgewebe eindringt.

Wir müssen deshalb aus allen unseren Versuchen den Schluß ziehen, daß in den Mehltaukonidien eine Substanz gebildet wird, die das Virus in vitro inaktiviert. Auch in den Fällen, wo die Virusinfektion durch eine bestehende Mehltauinfektion gehemmt wird (Tabelle 1), läßt sich ohne weiteres eine direkte Inaktivierung des Virus annehmen, da die hemmende Substanz durch die Haustorien und die Appressorien des Mehltaus ins Innere des Blattgewebes gelangen kann und dort mit den Viruseiweißen in Kontakt tritt. Für eine indirekte Einwirkung durch Umstimmung der zellphysiologischen Vorgänge ergaben sich in unseren Versuchen keine Anhaltspunkte.

4. Extraktion der virushemmenden Substanz

In den besprochenen Versuchen gingen wir immer von Konidiensuspensionen aus, deren Dichte durch die eingewogene Menge der Konidien sowie durch Verdünnung einigermaßen konstant gehalten wurde. Für ein genaues quantitatives Arbeiten würden sich jedoch Extrakte der Konidien besser eignen als Suspensionen.

Domsch (3) fand, daß das Zentrifugat einer Konidiensuspension des Gerstenmehltaus die Konidienkeimung des gleichen Pilzes hemmt. Es scheint sich dabei um eine leicht diffundierende Substanz zu handeln. Wird die Konidiensuspension zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit durch frisches Wasser ersetzt, so läßt sich in diesem keine Keimungshemmung mehr nachweisen. Es war nun interessant, diese keimungshemmende Substanz von Domsch mit unserer virushemmenden Substanz zu vergleichen.

Der folgende Versuch zeigt die Wirkung von zwei wässerigen Konidienextrakten. Er wurde mit je 30 Gurkenpflanzen (27 Tage alt) in folgenden Gruppen durchgeführt:

Gruppe 0 (Preßsaft): 0,5 g viruskrankes Blattgewebe wurde in 5 ccm dest. Wasser zerrieben und vor der Infektion 48 Stunden bei 3 ° C gehalten.

Gruppe 1 (Preßsaft + Konidiensuspension): 0,1 g Mehltaukonidien in 5 ccm dest. Wasser kamen für 24 Stunden in den Kühlschrank. Dann wurde diese Suspension zu 0,5 g zerriebenem krankem Blattgewebe beigefügt und nochmals für 48 Stunden bei 3 ° C aufbewahrt.

Gruppe 2 (Preßsaft + wässeriger Extrakt): 0,1 g Konidien wurden in 5 ccm dest. Wasser 24 Stunden bei 3 ° C gehalten. Hierauf wurde die Suspension durch ein Faltenfilter filtriert, nachgewaschen und das Filtrat wieder zu 5 ccm ergänzt und zu 0,5 g zerriebenem krankem Blattmaterial beigefügt und für 48 Stunden bei 3 ° gehalten.

Gruppe 3 (Preßsaft + 2. Konidiensuspension): Die im Filter zurückgebliebenen Konidien (Gruppe 2) wurden mit Wasser ausgewaschen und hierauf in 5 ccm dest. Wasser aufgenommen, mit 0,5 g Blattmaterial zerrieben und 48 Stunden bei 3 ° gehalten.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Abb. 4 dargestellt. Bei der Kontrolle (Gruppe 0) waren sieben Tage nach der Infektion sämtliche Pflanzen befallen. Bei der Konidiensuspension (Gr. 1) zeigte sich die bekannte Hemmung. Von den 30 Versuchspflanzen wiesen nach sieben Tagen nur acht und beim Abschluß des Versuches, nach 14 Tagen, nur 13 Pflanzen Virussymptome auf. Bedeutend schwächer war die Wirkung des wässerigen Extraktes (Gr. 2). Hier zeigte sich wohl eine gewisse Verzögerung im Auftreten der Symptome, doch waren nach zehn Tagen immerhin 28 von 30 Pflanzen befallen. Die wirksame Substanz scheint also nicht so leicht durch die Zellwände zu diffundieren wie die für die Konidienkeimung hemmende Substanz von Domsch. Dies mag unter Umständen mit der schweren Benetzbarkeit der Konidien im Zusammenhange stehen. Weitere Versuche müssen zeigen, ob der Austritt der wirksamen Substanz durch Zusatz eines Netzmittels beschleunigt werden kann. Auffällig ist in diesem Versuche die ausgezeichnete Wirksamkeit der zweiten Konidiensuspension (Gr. 3), wobei allerdings nicht feststeht, ob die hemmende Substanz hier noch in den Konidien oder im Wasser vorhanden war. Von den 30 Pflanzen waren in dieser Gruppe nach 14 Tagen nur 9 befallen.

Im Zusammenhang mit diesem Versuche wurde auch eine Ätherextraktion durchgeführt, wobei wir folgendermaßen vorgingen:

0,1 g Mehltaukonidien wurden in 30 ccm Äther vier Stunden lang stehengelassen und dann durch ein Faltenfilter filtriert. Der Filterrückstand (die mit Äther extrahierten Konidien, welche an der Luft stehen gelassen wurden, bis aller Äther verdampft war) wurde mit 30 ccm dest. Wasser versetzt, geschüttelt und 20 Stunden bei 3 ° C gehalten. Aus dem Filtrat wurde der Äther im Vakuum bei 40 ° C abgedampft. Der Rückstand wurde

wieder in etwas Äther aufgenommen und dieser in einer kleinen Schale verdampfen gelassen, worauf der verbleibende Rückstand, eine weißliche, wasserunlösliche Substanz, an der Luft getrocknet wurde. Die in 30 ccm dest. Wasser aufgenommenen, vorgängig mit Äther extrahierten Konidien wurden erneut filtriert, etwas mit Wasser nachgewaschen und das Filtrat bei 60 ° C auf 5 ccm eingeengt. 0,5 g viruskrankes Blattgewebe, welchem man diesen Wasserextrakt und den an der Luft getrockneten Ätherextrakt zufügte, wurden im Mörser zerrieben und mit diesem Gemisch nach einem 48stündigen Aufenthalt bei 3 ° C 30 Pflanzen infiziert. Dieser Extrakt zeigte genau dieselbe infektionshemmende Wirkung wie die zweite Konidiensuspension bei der Versuchsgruppe 3 (Kurve 3 in Abb. 4).

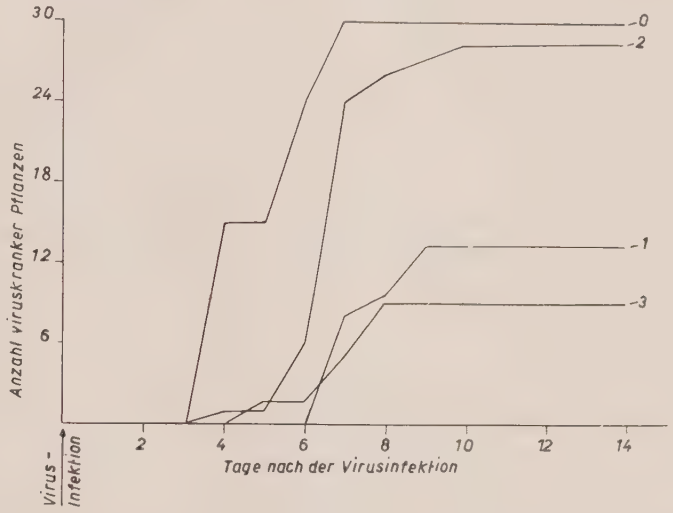


Abb. 4. Der Einfluß einer Konidiensuspension und eines wässerigen Extraktes von Mehltaukonidien auf die Infektionshäufigkeit des CMV. (Erklärung im Text)

In den Versuchen von Klinkowski (6) wirkten ebenfalls der wässerige Auszug und der wässerige Anteil der Ätherausschüttlung von *Lycoperdon gemmatum* am stärksten. Hier konnten durch den Äther die störenden Schleimsubstanzen abgetrennt werden, während bei den Mehltaukonidien durch diese Behandlung vermutlich die Zellwand so verändert wird, daß die Extraktion durch Wasser eine bessere Ausbeute ergibt.

Die Versuche über die Thermostabilität der infektionshemmenden Substanz sind noch nicht abgeschlossen, immerhin geht durch das Abdampfen des Wassers bei 60 ° C im Vakuum die hemmende Wirkung nicht verloren.

Die Filtrate der Konidiensuspension enthalten eine reduzierende Substanz, was in ihrem Vermögen, Kaliumpermanganat zu reduzieren, deutlich zum Ausdruck kommt.

Domsch (3) stellte fest, daß die Keimung der Konidien von *Erysiphe graminis* durch einen von ihnen in die Konidiensuspension ausgeschiedenen Stoff gehemmt wird. Es gelang ihm, diese Keimungshemmung zu beseitigen,

indem er die Konidiensuspension zentrifugierte und die überstehende Flüssigkeit durch frisches Wasser ersetzte. In eigenen Versuchen konnte die Konidienkeimung des Gurkenmehltaus um ungefähr das Dreifache verbessert werden, wenn der Suspension 50 mg $KMnO_4$ je Liter zugefügt wurde. Bei der Ermittlung der Keimprozente nach 48 Stunden zeigte es sich, daß das zugefügte $KMnO_4$ jeweils zu Braunstein reduziert war, während diejenige Konidiensuspension, bei welcher durch Zentrifugieren die erste Flüssigkeit durch frisches Wasser ersetzt und die gleiche Menge $KMnO_4$ zugefügt wurde, typische Violettfärbung aufwies. Weiter konnte festgestellt werden, daß auch die Extrakte von Konidien des Gurkenmehltaus, welche, wie schon früher erwähnt, bis zu einem gewissen Grad eine hemmende Wirkung auf das Gurkenmosaik ausüben, Kaliumpermanganat zu reduzieren vermögen. Es ist demnach möglich, daß die Ursache für die Hemmung der Konidienkeimung in den Versuchen von Domsch und diejenige für die Hemmung des Gurkenmosaikvirus in unseren Versuchen die gleiche ist und auf einer reduzierenden Wirkung beruht. In diesem Falle ist es nicht wahrscheinlich, daß der Hemmungseffekt, wie er in unseren Versuchen festgestellt werden konnte, indirekt über die Wirtspflanze zur Auswirkung gelangt. Vielmehr ist mit einer direkten Einwirkung auf das Virus selbst zu rechnen, da schon Stanley (9) zeigte, daß durch ähnliche Vorgänge, wie durch Eiweißfällung, Oxydation und pH-Veränderung eine Inaktivierung des TMV hervorgerufen werden kann.

5. Allgemeine Ergebnisse

Unsere Beobachtungen und Versuche zeigten, daß sich Gurkenmehltau und Gurkenmosaik g e g e n s e i t i g hemmen. Es bestehen hier also antagonistische Beziehungen, die sich vermutlich auch unter natürlichen Bedingungen auswirken müssen.

Die Hemmung des Mehltaubefalles durch eine bestehende Virusinfektion wurde nicht experimentell geprüft, doch zeigten zahlreiche Beobachtungen, daß sie tatsächlich besteht. Blattny und Osvald (1) stellten beim Hopfen ebenfalls eine Hemmung des Mehltaubefalles durch eine bestehende Virusinfektion („curl") fest. Nach dem uns zugänglichen Referat dieser Arbeit soll es sich sogar um Immunität gegenüber dem Mehltau handeln. Dagegen kommt nach diesen Autoren durch das Hopfenmosaik und durch das Virus der infektiösen Sterilität keine Hemmung des Mehltaus zustande.

Die Hemmung des Virusbefalles durch eine bestehende Mehltauinfektion läßt sich experimentell sowohl auf der Nährpflanze, als auch in vitro durch Konidiensuspensionen und Extrakte nachweisen. Unsere Ergebnisse stehen in einem gewissen Gegensatz zu den Angaben von Yarwood (13), der mit der Assoziation Virus + Rost arbeitete. Im allgemeinen konnte er feststellen, daß die Vermehrung des Tabakmosaikvirus im rostbefallenen Gewebe bedeutend stärker war als im rostfreien. Yarwood weist auf die Möglichkeit hin, daß hier die Menge der freien Aminosäuren, die durch die Rostinfektion erhöht wird, für die Virusinfektion von Bedeutung sein könne.

Immerhin zeigen sich auch in seinen Versuchen Andeutungen für eine antagonistische Wirkung zwischen Rost und TMV, da in virusbefallenen Geweben die Sporulation des Rostes gehemmt wurde. Daß sich aber Rost und Mehltau in ihrer Auswirkung auf den Virusbefall verschieden verhalten, wird auch von YARWOOD betont. Er konnte zeigen, daß der Bohnenmehltau (*Erysiphe polygoni*) die Virusinfektion nicht begünstigt.

BAWDEN, der selber eine indirekte Wirkung annimmt, betrachtet die Hemmstoffe als Substanzen, welche die Physiologie der Wirtszellen in der Weise verändern, daß diese die Vermehrung des Virus in der Pflanze nicht mehr begünstigen. Nach seiner Auffassung verlängern sie wahrscheinlich die Zeitspanne, die für den Ablauf der Prozesse notwendig ist, welche zur normalen Stabilisierung des Virus in den Zellen führen. Damit ergibt sich die Möglichkeit, daß das Virus durch bestimmte Säuberungsprozesse in der Zelle unschädlich gemacht wird. Immerhin betont BAWDEN auch, daß die zahlreichen heterogenen Hemmstoffe durchaus nicht dieselben Veränderungen bewirken müssen.

Eine direkte Wirkung auf das Virus konnte STANLEY (9) für eiweißfällende, oxydierende und pH-verändernde Substanzen feststellen. Ebenso fand WENT (12), daß die hemmende Wirkung von $CuSO_4$ und $HgCl_2$ eine direkte ist und daß eine Reaktivierung des Virus möglich ist. JOHNSON (5) konnte ebenfalls zeigen, daß es sich in gewissen Fällen nicht um einen irreversiblen Verlust der Infektiosität, sondern nur um eine Inaktivierung des Virus handelt. Zum gleichen Ergebnis kam auch FULTON (4). Die Versuche von TAKAHASHI (10) mit Hefen sprechen ebenfalls für eine direkte Inaktivierung in vitro. Ebenso lassen die Versuche von KLINKOWSKI (6) sowie seine mikroskopische Untersuchung von Blattquerschnitten und Oberflächenschnitten auf eine direkte Inaktivierung des Virus schließen.

In den letzten 20 Jahren sind zahlreiche, sehr heterogene Stoffe bekannt geworden, die hemmend auf Virusinfektionen wirken. Der Mechanismus der Hemmung ist aber auch heute für die meisten dieser Substanzen noch nicht geklärt, und die Kontroverse, ob es sich um eine direkte Inaktivierung des Virus oder um eine indirekte Wirkung auf die Pflanze handle, besteht immer noch. BAWDEN (2) hat neuerdings diese Fragen eingehend besprochen und die umfangreiche Literatur zusammengestellt.

STANLEY (9) nahm an, daß zahlreiche Hemmstoffe die Virusinfektion durch Abtötung der verletzten Zellen, die als Eintrittspforten für das Virus in Betracht kommen, verhindern. Diese Annahme mag nach BAWDEN für phytotoxisch wirkende Substanzen zutreffen, aber diese stellen nur einen kleinen Teil der bis jetzt bekannten Hemmstoffe dar.

Die Ergebnisse unserer Versuche lassen sich ebenfalls durch die Annahme einer direkten Hemmung bzw. einer teilweisen Inaktivierung oder Blokkierung des Virus einfach und zwanglos erklären. Dafür spricht schon die stärkere Hemmung bei längerer Einwirkungszeit (vgl. Abb. 3 und Tabelle 3). Man kann sich in diesem Versuche nicht gut vorstellen, daß die gleiche Konzentration der Konidiensuspension den Infektionsvorgang, die Stabilisierung

des Virus in der Wirtszelle oder die Virusvermehrung in der Pflanze so verschieden beeinflussen könnte. Auch die relativ stärkere Wirkung der gleichen Konidiensuspension bei stärkerer Verdünnung des Preßsaftes (Tabelle 4) läßt sich nur durch direkte Inaktivierung erklären. Schließlich spricht auch die Tatsache, daß wir mit einer Konidiensuspension, die direkt auf die Kotyledonen gebracht wurde, keine Hemmung des Virus erzeugen konnten, nicht für eine indirekte Beeinflussung. Die einfachste Erklärung ist wohl die Annahme einer direkten Wirkung, wobei man sich vorstellen kann, daß die Hemmung durch Reduktions- oder Adsorptionsvorgänge zustande kommt. Eine teilweise Inaktivierung ergibt den gleichen Effekt wie eine stärkere Verdünnung des Preßsaftes. Sie äußerte sich in unseren Versuchen durch einen geringeren prozentualen Befall der Pflanzen und durch einen langsameren Verlauf der systemischen Infektion.

Schließlich sei hier noch die Frage der Virusübertragung durch Mehltaukonidien kurz erörtert. Wenn man bedenkt, daß man durch parasitische Phanerogamen wie *Cuscuta* zahlreiche Virusarten auf andere Nährpflanzen übertragen kann, erscheint es auf den ersten Blick merkwürdig, daß nicht auch die Fortpflanzungsorgane parasitischer Pilze als Vektoren in Betracht kommen könnten. Bis jetzt scheinen derartige Versuche ergebnislos verlaufen zu sein. Die Ergebnisse unserer Versuche, die auf einen ausgeprägten Antagonismus zwischen Gurkenmosaik und Mehltau hinweisen, zeigen nun auch, daß in diesem Falle eine Übertragung durch den Pilz kaum in Betracht kommen kann. Zunächst befällt der Mehltau die Zellen, die das Virus in höheren Konzentrationen enthalten, nicht häufig. Wenn schließlich der Mehltau durch seine Haustorien mit dem Virus in Kontakt kommt und wenn überhaupt eine Aufnahme stattfindet, so müßte das Gurkenmosaik in den Mehltaukonidien ebenso sicher inaktiviert werden wie in unseren Versuchen durch die Konidiensuspensionen in vitro.

Zusammenfassung

1. Zwischen dem Gurkenmehltau (*Erysiphe polyphaga*) und dem Gurkenmosaikvirus besteht ein gegenseitiger Antagonismus. Unter natürlichen Bedingungen werden mehltaukranke Gurken weniger stark vom Virus befallen. Auf viruskranken Blättern besiedelt der Mehltau vorzugsweise die normal grünen Partien, während auf den Mosaikflecken weniger Haustorien nachzuweisen sind.
2. Werden mehltaukranke Pflanzen nachträglich mit Virus infiziert, so wird der Prozentsatz der Pflanzen, welche die Symptome einer systemischen Virusinfektion aufweisen, beträchtlich reduziert. Wo unter diesen Bedingungen eine Virusinfektion zustande kommt, wird das Fortschreiten der systemischen Infektion bedeutend verzögert.
3. Suspensionen von Mehltaukonidien verursachen in vitro die gleiche Reduktion und Verzögerung des Virusbefalls.

4. Die infektionshemmende Wirkung von Konidiensuspensionen nimmt mit zunehmender Einwirkungszeit in vitro zu.
5. Dieselbe Konidiensuspension bewirkt bei zunehmender Verdünnung des Preßsaftes eine stärkere Hemmung der Infektion.
6. Es wird angenommen, daß diese Hemmung auf eine direkte Inaktivierung des Gurkenmosaikvirus durch Stoffwechselprodukte des Mehltaus zurückzuführen ist. Für eine indirekte Wirkung dieser Substanzen durch eine Umstimmung der zellphysiologischen Vorgänge in der Wirtspflanze oder durch Erhöhung der Resistenz ergaben sich keine Anhaltspunkte.

Summary

1. Observations and experiments showed a distinct antagonism between the powdery mildew on cucumber (*Erysiphe polyphaga*) and the cucumber mosaic virus (CMV). Under natural conditions mildew diseased plants show less virus symptoms. On the other hand the mildew, when growing on virus diseased leaves prefers mainly the normal green tissue, while the mosaic spots bear much less haustoria.
2. The percentage of plants showing systemic virus symptoms is strongly reduced on mildew diseased cucumbers subsequently inoculated with CMV. If under these conditions a virus infection takes place, the development of the symptoms of systemic infection is considerably retarded.
3. Suspensions of mildew conidia cause in vitro a similar reduction and delay of the systemic virus infection.
4. The inhibition caused by conidia suspensions increases owing to the prolonged time of contact with the virus containing juice in vitro.
5. The inhibiting action of the same conidia suspension is more expressed the more the infection juice is diluted.
6. It is assumed that this inhibition of infection is attributable to a direct inactivation of the virus by certain metabolism products of the mildew. The experiments furnished no proof for an indirect inhibition due to a change of the host-cell physiology or by an increase of the resistance of the host plant.

Literaturverzeichnis

1. Blattny, C., and Osvald, V., 1954: Přenos viros chmele (*Humulus lupulus* L.) na potomstvo semenem. Preslia **26**, 1—26 [Ref. Biol. Abstr. **29**, 951 (Nr. 9641) 1955].
2. Bawden, F. C., 1954: Inhibitors and plant viruses. Advances in Virus Res. **2**, 31—57.
3. Domsch, K. H., 1954: Keimungsphysiologische Untersuchungen mit Sporen von *Erysiphe graminis*. Arch. f. Mikrobiol. **20**, 163—175.
4. Fulton, R. W., 1953: The sensitivity of plant viruses to certain inactivators. Phytopathology **33**, 674—682.

5. Johnson, J., 1941: Chemical inactivation and the reactivation of a plant virus. Phytopathology **31**, 679—701.

6. Klinkowski, M., 1953: Die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch pilzliche Stoffwechselprodukte. Mitt. Biol. Bundesanst. f. Land- u. Forstwirtschaft Berlin-Dahlem **80**, 162—168.

7. Porter, C. A., 1954: Histological and cytological Changes induced in Plants by Cucumber Mosaic Virus (*Marmor cucumeris* H.). Contrib. Boyce Thompson Inst. **17**, 453—471.

8. Sill, W. H., 1951: Some characteristics of a virus inhibitor in cucumber. Phytopathology **41**, 32.

9. Stanley, W. M., 1934/1935: Chemical studies on the virus of tobacco mosaic. Phytopathology **24**, 1055—1085; **25**, 475—492; 899—937.

10. Takahashi, W. N., 1942: A Virus inactivator from Yeast. Science **95**, 586—587.

11. Utech, N. M. and Johnson, J., 1950: The inactivation of plant viruses by substances obtained from Bacteria and Fungi. Phytopathology **40**, 247—265.

12. Went, J., 1937: The influence of various chemicals on the inactivation of tobacco virus 1. Phytopath. Z. **10**, 480—489.

13. Yarwood, C. E., 1951. Associations of Rust and Virus Infections. Science **114**, 127—128.

Aus der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie Aschersleben

Ein Beitrag zur Analyse der Obstvirosen des mitteldeutschen Raumes

Von

G. Baumann und M. Klinkowski

Mit 18 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Das Apfelmosaik. — 2. Das Bandmosaik des Pfirsichs. — 3. Das Bandmosaik der Pflaume. — 4. Die Ringfleckenkrankheit der Süßkirsche. — 5. Die „Stecklenberger Krankheit" der Sauerkirsche. — Schlußbetrachtung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Die Forschungsergebnisse über die Virosen der Kulturpflanzen nehmen von Jahr zu Jahr an Bedeutung und Umfang zu und haben auf allen Gebieten zu bedeutsamen Ergebnissen geführt, die über das theoretische Interesse hinaus vielfach auch praktischen Niederschlag gefunden haben. Im Vergleich zu den krautigen Pflanzen sind unsere Kenntnisse über die Virosen von Holzgewächsen lange Zeit unzureichend gewesen. Bis vor kurzem war die europäische Situation — soweit es sich um wirtschaftlich wichtige Viruskrankheiten handelte — gekennzeichnet durch das Auftreten der Sharka-Virose der Pflaume (Syn.: Plum pox) in den südosteuropäischen Ländern (Bulgarien, Jugoslawien, neuerdings auch Ungarn und Tschechoslowakei) und der Pfeffingerkrankheit, deren Vorkommen viele Jahre nur in der Schweiz bekannt war und später in Südwestdeutschland nachgewiesen wurde, sie ist wahrscheinlich mit der Eckelraderziekte in Holland identisch. Außerhalb dieser, hier nur in groben Umrissen skizzierten Verbreitungsareale schienen weite Gebiete befallsfrei zu sein. Der Schwerpunkt der Obstvirosenforschung hat sich im Verlauf des letzten Jahrzehnts nach Nordamerika verlagert, wo eine große Zahl von Viruskrankheiten des Kern- und besonders des Steinobstes festgestellt und eingehender untersucht wurde. Erst vor wenigen Jahren ist eine diesbezügliche Zusammenstellung — in Form einer Gemeinschaftsarbeit amerikanischer und kanadischer Forscher — veröffentlicht worden (Anonym, 1951). In den letzten Jahren haben insbesondere Untersuchungen in der Schweiz, in England und in Holland sowie in Bulgarien unter Beweis ge-

stellt, daß auch im europäischen Obstbau den Virosen eine große wirtschaftliche Bedeutung zuzusprechen ist. Abgesehen von der Feststellung, daß die Pfeffingerkrankheit auch in Westdeutschland anzutreffen ist, liegen für die Bundesrepublik eine Reihe weiterer Angaben vor, die keinen Zweifel mehr darüber lassen, daß auch dort verschiedene Virosen bei Kern- und Steinobst auftreten (KOTTE, 1951; BÖMEKE, 1952; KUNZE, 1953, 1954; THIEM, 1953). Die Analyse der Virosen des Obstes kann auch dort noch keineswegs als abgeschlossen gelten. Für den Mitteldeutschen Raum lagen bisher noch keine experimentell gesicherten Beweise für das Vorkommen von Obstvirosen vor. Unsere eigenen Untersuchungen gingen nicht von dieser Feststellung aus, sondern ergaben sich aus den lokalen Verhältnissen eines geschlossenen Obstanbaugebietes am Nordrand des Harzes, in dem Süß- und Sauerkirsche eine beherrschende Stellung einnehmen. In diesen Anlagen wurden wir in den Jahren nach dem 2. Weltkrieg auf eine Reihe von pathologischen Erscheinungen aufmerksam, für die zunächst keine befriedigende kausale Erklärung gegeben werden konnte. Verdachtsmomente verschiedener Art ließen es immer wahrscheinlicher werden, daß neben Schadursachen parasitärer und nichtparasitärer Natur auch Viren am Zustandekommen dieser Krankheitsbilder beteiligt sein können. Dies war der Ausgangspunkt unserer Untersuchungen, die inzwischen über den lokalen Rahmen des erwähnten Obstanbaugebietes ausgedehnt worden sind. Im Verlauf nunmehr zweijähriger Untersuchungen sind wir zum Nachweis einer Reihe von Viruskrankheiten gelangt, wobei auch eine Virose ermittelt werden konnte, die nach unserer Meinung nicht mit bereits bekannten zu identifizieren ist. Die vorliegende Arbeit soll nur einen kurzen Überblick über die bisherigen Untersuchungsbefunde bringen, während in weiteren Veröffentlichungen eine Reihe spezieller Probleme behandelt werden soll.

1. Das Apfelmosaik

Diese Krankheit, in Deutschland auch unter dem Namen „Jonathan-Mosaik" bekannt, kommt in Nordwestdeutschland (BÖMEKE, 1952), Holland (VAN KATWIJK, 1953), Norwegen (RAMSFJELL, 1950), Großbritannien (WALLACE, OGILVIE und SWARTBRICK, 1944), Schweiz (BLUMER, 1955), Bulgarien (CHRISTOFF, 1934), Nordamerika (THOMAS, 1936—37), Neuseeland (ATKINSON und CHAMBERLAIN, 1948) und Südafrika (LOUW, 1944) vor. Sie ist gekennzeichnet durch eine gelbe oder cremefarbene Scheckung der Blätter. Am häufigsten entstehen Flecke, Linien oder Ringe in wechselnder Form und Anzahl. Die Scheckung erfaßt oft ganze Teile der Blattspreite, wobei es später, begünstigt durch starkes Sonnenlicht, zur Bildung nekrotischer Flecke kommen kann. Längs der Adern treten auch chlorotische Streifen auf. Inwieweit die unterschiedliche Symptomausprägung sortentypisch ist oder dem Vorhandensein von Virusstämmen (POSNETTE und CROPLEY, 1952) zugeschrieben werden muß, ist vorläufig noch nicht geklärt.

Die Übertragung dieses Virus erfolgt nach den bisherigen Feststellungen nur durch Pfropfung und Okulation, ein Vektor ist nicht bekannt. Experi-

mentell konnte das Virus durch Preßsaftabreibung oder Verreiben von ausgestanzten Blattstückchen auf *Cucumis sativus*, *Phaseolus vulgaris*, *Nicotiana tabacum*, *Lycopersicum esculentum* und *Vigna sinensis* übertragen werden (YARWOOD, 1953).

In Nordwestdeutschland, in Holland und in der Schweiz wurde das Apfelmosaik vornehmlich auf den Sorten „Golden Delicious", „Gravensteiner", „Jonathan", „Cox Orange" u. a. gefunden; wir konnten das Virus bisher nur auf einer englischen Sorte „Lady Sudeley" sowie auf der Hybride „75 B 5225 Oldenburg, frei abgeblüht" feststellen.

In Übertragungsversuchen wurden zweijährige getopfte Apfelsämlinge im August mit Augen eines infizierten Baumes okuliert. Etwa 14 Tage nach dem Austrieb im März (Gewächshaus) erschienen zunächst auf den ältesten Blättern der unteren Triebe Symptome in Form der eingangs beschriebenen Scheckung, die sich bis zum Abschluß der Triebentwicklung auf allen zuwachsenden Blättern ausbreiteten (Abb. 1). In weiteren Versuchen soll geklärt werden, inwieweit das Apfelmosaikvirus auf andere Arten der Gattung *Malus* sowie auf die Gattungen *Pirus* und *Prunus* übertragen werden kann.

Über die wirtschaftliche Bedeutung dieser Virose liegen nur wenige Befunde vor. Nach Berichten von VAN KATWIJK (1953) sollen in Holland bei stärkerem Befall nach mehreren Jahren Wuchsdepressionen und eine geringere Blattentwicklung auftreten können. Einer Verbreitung der Krankheit durch Verwendung infizierter Reiser in Baumschulen sollte vorgebeugt werden.

Abb. 1. Übertragung des Apfelmosaik-Virus auf Sämlinge von *Malus pumila*. Okulation: August 1954, Aufnahme: 20. 7. 1955

2. Das Bandmosaik des Pfirsichs

Ein an einem Pfirsichbaum der Sorte „Mayflower" auftretendes leuchtend gelbes Bandmosaik ließ sich im Übertragungsversuch als Viruskrankheit nachweisen (Abb. 2). Getopfte ein- und zweijährige Pfirsichsämlinge wurden im August mit Augen des kranken Baumes okuliert, im Freiland überwintert und im Februar des folgenden Jahres im Gewächshaus aufgestellt. Nach etwa drei Wochen zeigten sich auf den ersten Blättern der Triebe kleine gelbe Ringflecke, auf den jüngeren Blättern ein dunkelgrünes „Preßmuster", das im Verlauf von zwei Wochen auch auf die Blätter der oberen Seitentriebe übergriff. Anfang April erschien auf den basalen Blättern des Spitzentriebes ein

gelbes Bandmosaik, das auf die älteren Blätter beschränkt blieb. Später zuwachsende Blätter wiesen nur noch schwache Aufhellungen der Interkostalfelder auf, waren aber, wie die älteren Blätter, am Rande gewellt.

Auf junge, gerade austreibende Pfirsichsämlinge ließ sich das Virus durch die Methode des „chip-budding" (KUNZE, 1954) übertragen, wobei die ersten Symptome etwa vier Wochen nach der Infektion erschienen. In derselben Weise infizierte zweijährige Sämlinge von *Prunus cerasifera* var. *myrobalana* und *P. armeniaca* reagierten mit schwacher chlorotischer Aufhellung, zur Bildung eines deutlichen Bandmosaiks kam es hier bisher nicht. Rückübertragungsversuche sind zur Zeit im Gange. Alle nichtinfizierten oder mit Augen gesunder Bäume okulierten Kontrollen zeigten bis zum Abschluß der Vegetationsperiode keine Symptome.

Abb. 2. Bandmosaik des Pfirsichs auf *Prunus persica*. Links Sorte „Mayflower", rechts Übertragung (durch chips im Gewächshaus) auf Sämlinge am 23. 3. 1955, Aufnahme: 20. 7. 1955

Weitere Untersuchungen über den Wirtspflanzenkreis sollen darüber Aufschluß geben, ob das aus Amerika (CATION, 1941) und Holland (VAN KATWIJK, 1953) bekannte „line pattern virus" des Pfirsichs mit dem vorliegenden identisch ist.

3. Das Bandmosaik der Pflaume

REINMUTH hat 1954 über das Auffinden von Bandmosaik-Symptomen an Pflaumenbäumen der Sorten „Blaue Hauspflaume", „Wangenheim" und „Emma Leppermann" in Mecklenburg berichtet und auf Grund der eindeutig erscheinenden Symptome auf den vermutlich virösen Charakter dieser Erscheinung hingewiesen. Inzwischen konnten wir das Vorkommen des Bandmosaik-Virus in allen Teilen Mitteldeutschlands feststellen und durch Übertragungsversuche nachweisen (Abb. 3). Über die Identität dieses Virus mit dem in der amerikanischen Literatur beschriebenen „line pattern virus" (*Marmor lineopictum* Cation) dürfte kein Zweifel bestehen (CATION, 1941; BERKELEY, CATION, MILBRATH, WILLISON und ZELLER, 1951). Bezüglich der näheren Beschreibung der Symptomatologie und des Verbreitungsareales der

Krankheit verweisen wir auf REINMUTH (1954). Nach unseren bisherigen Beobachtungen zeigen in unserem Gebiet neben der „Blauen Hauspflaume" und der als Pflaumenunterlage verwendeten „Wolmirstedter Pflaume" vor allem die Sorten „Nancymirabelle", „Wangenheim", „Gerstetter" und „Bühlers Frühzwetsche" deutliche Symptome. Nach Untersuchungen von BLUMER (1955) haben wahrscheinlich die Sorten „Lützelsachser Frühzwetsche", „Kirkes Pflaume", „Gelbe Eierpflaume", „Große grüne Reineclaude" und auch *Prunus cerasifera* var. *myrobalana* als symptomlose Träger des Virus zu gelten.

Nach Gewächshausinfektionen zweijähriger getopfter Pfirsichsämlinge im Frühjahr zeigten sich in unseren Versuchen die ersten Symptome etwa vier Wochen nach der Übertragung in Form kleiner gelber Ringflecke, die allmählich eine, ganze Teile der Blattspreite erfassende, Gelbscheckung erkennen ließen. Die Übertragung dieses Virus erfolgt nur durch Pfropfung oder Okulation, ein Vektor ist bisher nicht bekannt.

Über die wirtschaftliche Bedeutung dieser Krankheit herrscht noch keine Klarheit. Bei starkem Befall, wie wir ihn besonders auf der Sorte „Nancymirabelle" beobachteten, kann es zu einer Verminderung der Blattentwicklung und auch des Triebwachstums kommen. Da stärkere Schäden auftreten können, wenn es zu einer bisher noch nicht sicher nachgewiesenen Kombination des Bandmosaik-Virus mit anderen Viren kommt, sollte einer weiteren Ausbreitung des Bandmosaiks durch Verwendung infizierter Unterlagen oder Reiser entgegengewirkt und während des Sommers eine scharfe Selektion in den Baumschulen durchgeführt werden.

Abb. 3. Bandmosaik der Pflaume auf *Prunus domestica*. Eichenblattmuster und Ringflecke auf der Sorte „Blaue Hauspflaume"

Abb. 4. Eichenblattmuster und Ringflecke auf wildwachsender *Prunus spinosa*

Es sei in diesem Zusammenhang erwähnt, daß wir Bandmosaik- und Ringfleckensymptome auf Blättern von wildwachsender *Prunus spinosa* im Harz fanden (Abb. 4). Am Viruscharakter dieser Erscheinung dürfte unseres Erachtens kaum ein Zweifel bestehen; Übertragungsversuche sind zur Zeit im Gange. Es erscheint uns ausgeschlossen, daß die Virose durch Pfropfung oder Okulation auf die in unmittelbarer Nähe virusbefallener Süß- oder Sauerkirschen stehenden *Prunus spinosa* erfolgte. Die Möglichkeit, daß diese Wildpflanze als Virusreservoir dienen kann, muß in Betracht gezogen werden.

4. Die Ringfleckenkrankheit der Süßkirsche

Diese Krankheit kommt in allen Teilen Mitteldeutschlands häufig vor. ATANASOFF (1935) hat sie schon vor 20 Jahren in Bulgarien nachgewiesen, KUNZE (1954) fand sie an der Bergstraße, BLUMER (1955) berichtet über ihr Auftreten in der Schweiz. In Amerika ist diese Viruskrankheit seit mehr als 20 Jahren bekannt und weit verbreitet (COCHRAN, HUTCHINS, MILBRATH, STOUT und ZELLER, 1951). Sie ist gekennzeichnet durch das Auftreten gelber oder hellgrüner Ringe oder Bänder auf den Blättern. Neben vereinzelt vorkommenden Ringflecken kann die Blattspreite völlig von der Scheckung erfaßt sein, wobei außer breiten bandförmigen Ringen oder Linien auch gezonte Ringflecke auftreten (Abb. 5). Vermutlich ist die Symptomausprägung sortentypisch. Charakteristisch ist, daß das Krankheitsbild nur auf wenige, kurz nach dem Austrieb erscheinende Blätter im unteren Bereich der Baumkrone beschränkt bleibt, wo es aber während des ganzen Sommers zu finden ist. Die Symptome treten nicht jedes Jahr in Erscheinung, sondern es kann bei dieser Virose zu mehrjähriger Symptommaskierung kommen, die durch Pfropfung oder starken Rückschnitt durchbrochen werden kann (BLUMER, 1955).

Abb. 5. Ringfleckenkrankheit der Süßkirsche auf zwei verschiedenen Sorten von *Prunus avium*

In unseren Übertragungsversuchen wurden Sämlinge von *Prunus avium* und *P. persica* sowie eine dreijährige Süßkirschenveredlung der Sorte „Hedelfinger" mit drei Herkünften des Virus (Naumburg, Schleiz, Stecklenberg) durch Oku-

lation im August bzw. chip-budding im Frühjahr im Gewächshaus infiziert. Die genannnte Sorte, infiziert mit der Virusherkunft Naumburg, zeigte Mitte Mai des folgenden Jahres auf einem der unteren Blätter eine schwach gelbe Ringfleckenbildung, auf einigen anderen Blättern gelbe Bänder. Auf später zuwachsenden Blättern wurden keine Symptome mehr ausgebildet. Auf zweijährigen *Prunus avium*-Sämlingen, die mit der gleichen Virusherkunft infiziert und nach Überwinterung im Freiland im Februar ins Gewächshaus geholt worden waren, erschienen erst etwa zehn Wochen nach dem Austrieb auf den älteren Blättern zunächst gelbliche, später sich hellbräunlich verfärbende, teilweise gezonte Flecke (Abb. 6). Nach Freilandinfektionen mit der Herkunft Schleiz zeigten sich auf dreijährigen *Prunus avium*-Sämlingen kurz nach dem Austrieb auf den ältesten Blättern der diesjährigen Triebe und der Seitentriebe am älteren Holz eine an Intensität allmählich zunehmende Gelbverfärbung einzelner Teile der Blattspreite, auf einigen Blättern auch Ringflecke. Mit der Herkunft Stecklenberg wurden zweijährige *Prunus persica*-Sämlinge im Februar durch chip-budding im Gewächshaus infiziert und reagierten bereits nach knapp vier Wochen mit der Bildung kleiner gelber Ringflecke auf den unteren Blättern der über den chips sitzenden Seitentriebe. Gegen Ende der Vegetationsperiode wiesen diese Blätter eine kräftig gelbe Scheckung auf, auf später zuwachsenden Blättern wurden keine deutlichen Symptome ausgebildet. Das Virus ließ sich von Pfirsich zu Pfirsich übertragen, die Rückübertragungen auf *Prunus avium* sind noch nicht abgeschlossen. Das gleiche gilt für die Untersuchungen über den Wirtspflanzenkreis. Alle nichtinfizierten Kontrollen von *Prunus persica, P. avium* und „Hedelfinger" zeigten keine Symptome.

Abb. 6. Übertragung der Ringfleckenkrankheit der Süßkirsche auf Sämlinge von *Prunus avium*. Okulation: August 1954, Aufnahme: 20. 7. 1955

Nach Untersuchungen amerikanischer Autoren (Cochran, Hutchins, Milbrath, Stout und Zeller, 1951) gehören zum Wirtspflanzenkreis dieses Virus: *Prunus cerasus, P. salicina, P. domestica, P. amygdalus, P. armeniaca, P. cerasifera, P. mahaleb* u. a. Neben der Übertragungsmöglichkeit durch Pfropfung und Okulation ist die Übertragbarkeit dieses Virus durch den Samen von *Prunus mahaleb, P. avium* und *P. persica* nachgewiesen (Cation, 1952; Cochran, Hutchins, Milbrath, Stout und Zeller, 1951).

Eine Beeinflussung des Ertrages älterer Süßkirschenbäume durch den Virusbefall ist bisher nicht bekannt, bei jungen infizierten Bäumen treten nach BLUMER (1955) Wachstumshemmungen auf. Da das Virus möglicherweise im Komplex der Pfeffingerkrankheit enthalten ist (BLUMER, 1953), muß durch scharfe Auslese befallener Mutterbäume in Baumschulen und Wildlingsbaumschulen seiner weiteren Ausbreitung unbedingt vorgebeugt werden.

Wir sind uns darüber im klaren, daß der Verwendung von *Prunus avium*-Sämlingen für Übertragungsversuche Mängel anhaften, wie z. B. das mögliche Auftreten von Spontaninfektionen eines samenübertragenen Ringspot-Virus. Wir haben jedoch unter 250 für diese Versuche angezogenen, jetzt zweijährigen Sämlingen Spontaninfektionen bisher nicht beobachten können und sind auf die Verwendung dieses Materials angewiesen, solange uns die auf Virusfreiheit geprüften „East Malling F 12/1"-Unterlagen noch nicht in genügender Menge zur Verfügung stehen.

5. Die „Stecklenberger Krankheit" der Sauerkirsche

Diese in der Literatur bisher nicht beschriebene Virose wird im mitteldeutschen Raum schon seit mehreren Jahren beobachtet und ist in der Praxis häufig auf Frostschäden oder auf Unverträglichkeit mit der Unterlage zurückgeführt worden. Sie ist in weiten Teilen Mitteldeutschlands verbreitet, am stärksten befallen sind nach unseren bisherigen Feststellungen die Sauerkirschenanlagen am nördlichen Harzrand.

a *b* *c* *d* *e*

Abb. 7. „Stecklenberger Krankheit". Triebstauchung und und Rosettenbildung. a und c: Zweige eines gesunden Baumes; b, d und e: Zweige erkrankter Bäume, die Pfeile markieren die Länge der vorjährigen Triebe. Sorte: „Schattenmorelle". Aufnahmen: 29. 4. bzw. 27. 5. 1955

Ältere erkrankte Bäume weisen eine starke Hemmung des Triebwachstums auf (Abb. 7). Die Länge diesjähriger Triebe betrug im Durchschnitt von 200 Messungen 5,3 cm bei kranken Bäumen gegenüber einer Länge von 10,5 cm der Triebe von gesunden Bäumen gleichen Alters am selben Standort.

Bei schwer erkrankten Bäumen besteht der gesamte diesjährige Zuwachs meist nur noch in einer terminalen Rosette mit sechs bis acht Augen (Abb. 8). Die Blätter bleiben kleiner, sind schmaler als die gesunden, lederig verdickt und meist ober-

seits fettig glänzend. Die Blattränder können nach der Mitte und aufwärts gewölbt sein (Abb. 9). An absterbenden Bäumen finden sich nur noch wenige Blattbüschel von fahler grau-grüner Farbe, die an stark gestauchten, verdickten Trieben sitzen.

Abb. 8. „Stecklenberger Krankheit". Oben gesunder Baum, unten kranker Baum. Sorte: „Schattenmorelle". Aufnahme: 10. 5. 1955

Blattsymptome erscheinen, jedoch nicht in jedem Jahr, zuerst auf den basalen Blättern der diesjährigen Triebe oder der Seitentriebe am älteren Holz in Form brauner oder rotbrauner Ringe und Flecke, die später ausbrechen und dem Blatt ein durchlöchertes Aussehen geben können (Schrotschußeffekt) (Abb. 10). Von der Schrotschußkrankheit, verursacht durch *Clasterosporium carpophilum,* sind die Nekrosen durch ihre unregelmäßige Form gut zu unterscheiden. Auf den folgenden Blättern tritt in der Regel eine hellgrüne-gelbliche Sprenkelung auf, die meist nur Teile der Blattspreite erfaßt und bis zum Abschluß der Vegetationsperiode sichtbar ist. In dieser Sprenkelung können dunkelgrüne oder gebliche, häufig gezonte Ringflecke gebildet werden. Deformationen der Blätter, vor allem Asymmetrie, sind nicht selten. Die Blätter des Johannistriebes sind in der Regel symptomfrei, nur gelegentlich können auch hier noch einmal die Primärsymptome in Form nekrotischer Ringe auftreten. Charakteristisch ist die Bildung blättchenförmiger Enationen in den Interkostalfeldern der Blattunterseite, meist nahe am Blattrand im mittleren bis oberen Bereich der Blattspreite (Abb. 11). Diese Enationen finden sich meist nur an wenigen Blättern eines erkrankten Baumes und treten nicht in

Abb. 9. „Stecklenberger Krankheit". Zweig eines erkrankten Baumes. Entwicklung weniger und kleiner Blätter, Triebwachstum gehemmt, Fruchtstiele verkürzt. Sorte: „Schattenmorelle"

Abb. 10. „Stecklenberger Krankheit". Blattsymptome. Oben Nekrosen auf den ältesten Blättern, unten Mosaikscheckung und Ringflecke auf den jüngeren Blättern der Frühjahrstriebe. Sorte: „Schattenmorelle". Aufnahmen: 25. 5. bzw. 20. 7. 1955

jedem Jahre auf. Über Enationenbildung und Blattdeformationen an verschiedenen Sauerkirschensorten in der Pfalz hat THIEM (1953) berichtet. Wir beobachteten an befallenen Bäumen entweder Ringfleckenbildung oder Enationen oder auch beide Symptome gemeinsam. Nach unseren bisherigen Feststellungen folgt auch bei der vorliegenden Virose einem für die Viren der Ring spot-Gruppe bekannten Schockeffekt mit starker Symptomausprägung der Wirtspflanze eine Periode weitgehender Symptommaskierung, die sich offenbar über mehrere Jahre erstrecken kann. Der

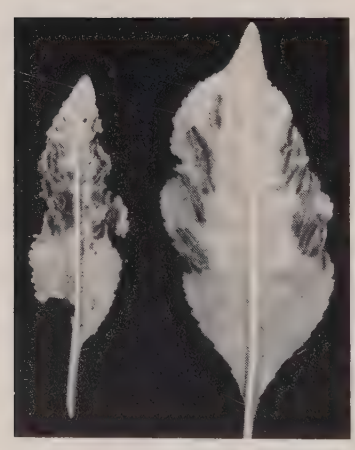


Abb. 11. „Stecklenberger Krankheit". Enationenbildung auf der Blattunterseite. Sorte: „Schattenmorelle". Aufnahme: Juli 1954

Abb. 12. „Stecklenberger Krankheit". Knospenverkümmerung. Links Trieb eines gesunden Baumes. Sorte: „Schattenmorelle". Aufnahme: 18. 5. 1955

Jahreszuwachs erscheint dann wieder etwas besser, die Blätter sind größer und es fehlt das Auftreten der Ringflecke auf Basal- und Folgeblättern, die nur eine feine gelbe Zeichnung sowie Deformationen und Enationenbildung erkennen lassen. Die Bedingungen, unter denen es nach einem längeren Zeitraum des chronischen Krankheitsverlaufes wieder zu einem akuten Ausbruch der Erkrankung kommen kann, sind noch unbekannt, möglicherweise spielen Witterungsfaktoren hierbei eine Rolle. Es muß noch erwähnt werden, daß bei erkrankten Bäumen häufig eine Verkümmerung der Blütenknospen auftritt, die in der Praxis meist auf Frostschäden zurückgeführt wird. Die Blütenknospen treiben im Frühjahr nicht aus, sondern bleiben stecken, vertrocknen später und fallen ab (Abb. 12). Vereinzelt können sich an diesen Trieben einige Knospen entfalten, diesen fehlen die Petalen, ihr Gynaeceum

Abb. 13. „Stecklenberger Krankheit". Symptome auf *Prunus mahaleb*-Unterlage (links) und *P. avium*-Unterlage (rechts). Aufnahmen: Juli 1954

ist verkümmert und die Blütenstiele sind stark verkürzt. Die für Frostschädigungen charakteristischen Gewebeverbräunungen im Bereich der Knospenbasis (Fischer, 1953) konnten beim Durchschneiden verkümmerter Knospen nicht festgestellt werden. Diese Erscheinung tritt meist nur an wenigen Ästen eines Baumes auf, vereinzelt konnten wir auch eine totale Knospenverkümmerung feststellen, wobei die Bäume in allen Fällen auch irgendein anderes Symptom der Viruserkrankung aufwiesen. In Übertragungsversuchen zeigten zweijährige infizierte Sauerkirschen die Knospenverkümmerung in unterschiedlichem Ausmaß, besonders ausgeprägt war sie an den Bäumen, die nach der Infektion im Spätherbst zurückgeschnitten worden waren. Es bleibt noch zu klären, ob diese Anomalie eine direkte Folge der Virusinfektion ist oder ob infizierte Bäume empfindlicher gegen Schädigungen der Blütenanlage durch andere Faktoren sind.

Abb. 14. Übertragung der „Stecklenberger Krankheit" auf Sämlinge von *Prunus percisa* im Gewächshaus; kleine gelbe Flecke (rechts Kontrolle). Okulation: August 1954, Aufnahme: 29. 4. 1955

Unterlagen erkrankter Sauerkirschen weisen in vielen, nicht aber in allen Fällen deutliche Virussymptome auf, und zwar in Form gelber Flecke oder Bänder (*Prunus mahaleb*) oder einer schwach gelben Scheckung des Blattes mit mehr oder weniger zahlreichen Nekrosen (*P. avium*) (Abb. 13). Auch hier bleiben die Symptome auf die ältesten Blätter beschränkt.

Von dieser Viruskrankheit wird in unserem Gebiet vor allem die am meisten angebaute Sorte „Schattenmorelle" befallen, daneben haben wir das Virus auch auf den Sorten „Diemitzer Amarelle", „Königliche Amarelle", „Leitzkauer", „Nordmann", „Köröser", „Pandys" und einer russischen Sauerkirschenunterlage gefunden. Dabei wiesen acht- oder zehnjährige Bäume ebenso starke Anzeichen der Erkrankung auf wie 15- bis 20jährige.

Das Virus ließ sich durch Okulation oder chip-budding auf ein-, zwei- und dreijährige Schattenmorellen und auf zwei- und dreijährige Sämlinge von *Prunus persica* (Abb. 14) und *P. avium* (Abb. 15 u. 16) übertragen, die alle mit deutlicher Symptomausprägung reagierten, während sich auf *Prunus mahaleb* im ersten Jahre nach der Infektion keine charakteristischen Symptome zeigten. Eine eingehendere Darstellung der Übertragungsversuche erfolgt in Kürze durch einen von uns (G. BAUMANN) an anderer Stelle. Es gelang außerdem, die Krankheit durch Preßsaftabreibung von Blättern erkrankter Bäume auf *Cucumis sativus* („Delikateß") zu übertragen, hier erschienen sechs

Abb. 15. Übertragung der „Stecklenberger Krankheit" auf Sämlinge von *Prunus avium*. Gelbscheckung und „Schrotschußeffekt". Okulation: August 1954, Aufnahme: 20. 7. 1955

bis acht Tage nach der Infektion chlorotische Flecke oder Ringflecke auf den Cotyledonen, Adernaufhellung, Fleckenbildung und Deformationen des ersten Blattes; häufig erfolgte ein Absterben des Vegetationspunktes zehn bis zwölf Tage nach der Infektion (Abb. 17). Ähnliche Symptome sind insbesondere von Willison (1951) nach Übertragung einiger Steinobstvirosen (Cherry yellows, Tatter leaf, Prune dwarf) auf der gleichen Testpflanze beschrieben worden.

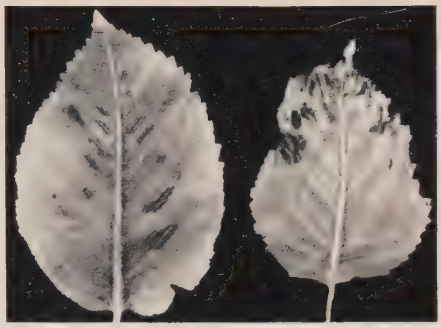


Abb. 16. Übertragung der „Stecklenberger Krankheit" auf Sämlinge von *Prunus avium* im Gewächshaus; Enationenbildung. Okulation: August 1954, Aufnahme: 29. 4. 1955

Weitere Übertragungen auf andere Arten der Gattung *Prunus* sowie auf verschiedene Süß- und Sauerkirschensorten wurden vorgenommen, die Ergebnisse können erst im nächsten Jahre erwartet werden.

Dieser Krankheit muß nach unseren bisherigen Feststellungen eine große wirtschaftliche Bedeutung zugeschrieben werden. In Stecklenberg/Ostharz haben wir in 10- bis 15jährigen Anlagen bisher etwa 70 bis 80 % erkrankte Bäume festgestellt, von denen im Verlaufe der dreijährigen Beobachtungszeit etwa 5 % abgestorben sind. Es muß damit gerechnet werden, daß sich unter den scheinbar gesunden Bäumen noch eine größere Anzahl mit Symptommaskierung befindet. Über die Ursache der starken Verbreitung können wir bisher nur die Vermutung äußern, daß ein großer Teil der kranken Bäume wahrscheinlich schon infiziert aus den Baumschulen verpflanzt wurde. Ob darüber hinaus eine Ausbreitung innerhalb des Bestandes erfolgen kann, werden weitere Untersuchungen zeigen müssen. Da die Übertragung durch Samen von *Prunus mahaleb* und *P. avium* nicht ausgeschlossen ist, muß von den Wildlingsbaumschulen die Prüfung der Mutterbäume auf das Vorhandensein virusverdächtiger Symptome und die Ausschaltung aller erkrankten Bäume von der Samengewinnung gefordert werden. Darüber hinaus sollten auch symptomlose Mutterbäume durch Test-Okulationen auf *Prunus avium*- oder *P. persica*-Sämlinge auf ihre tatsächliche Virusfreiheit untersucht werden. In den Baumschulen sind alle

Abb. 17. Mechanische Übertragung der „Stecklenberger Krankheit" von *Prunus mahaleb* auf *Cucumis sativus*. Abreibung: 9. 6. 1955, Aufnahme: 23. 6. 1955

verdächtigen Unterlagen von der Veredlung auszuschließen und die Reiser nur von einwandfreien Bäumen zu gewinnen.

Die vorliegende Viruskrankheit, die mit keiner der bisher beschriebenen Steinobst-Virosen identifiziert werden konnte und die wir nach dem ersten Fundort und dem Gebiet ihrer bisher stärksten Verbreitung als „Stecklenberger Krankheit" der Sauerkirsche bezeichnen, weist einige gemeinsame Symptome mit der durch das necrotic ring spot virus in Amerika verursachten Sauerkirschenkrankheit (BERKELEY, CATION, HILDEBRAND, KEITT und MOORE, 1951; BERKELEY und WILLISON, 1948; WILLISON, BERKELEY und CHAMBERLAIN, 1948) und ihrer neuerdings aus Holland beschriebenen Form auf (MULDER, 1954, 1955). Allen dreien ist das Auftreten nekrotischer Flecke auf den basalen Blättern, die Hemmung der Blattentwicklung und des Triebwachstums und die Möglichkeit der mehrjährigen Symptommaskierung gemeinsam. Die „Stecklenberger Krankheit" unterscheidet sich vom necrotic ring spot durch das Auftreten der während des ganzen Sommers zu findenden Symptome auf den jüngeren Blättern des Frühjahrstriebes sowie durch die Bildung von Enationen. Es muß vorläufig angenommen werden, daß die in unserem Gebiete verbreitete Sauerkirschen-Virose durch eine besondere Form des sour cherry necrotic ring spot virus verursacht wird oder durch einen Komplex, dessen eine Komponente das necrotic ring spot virus ist.

KUNZE (mündliche Mitteilung) fand an einer Sauerkirsche in einer von der Pfeffingerkrankheit befallenen Süßkirschenanlage am Rhein Enationenbildung, die er übertragen konnte. In gemeinsamen Untersuchungen soll geklärt werden, ob eine Identität dieser Virose vom Rhein mit der Stecklenberger Krankheit besteht und ob beide Virosen irgendeine Beziehung zum Komplex der Pfeffingerkrankheit aufweisen.

Schlußbetrachtung

Die Untersuchungen — auf deren bisher zweijährige Dauer nochmals verwiesen sei — haben, gestützt auf experimentelle Übertragungsversuche, das Vorkommen einer Reihe von Obstvirosen unter Beweis gestellt. Viele Fragen bezüglich der Identität der einzelnen Viren, ihrer Verbreitung, den Möglichkeiten ihrer Bekämpfung bzw. der Vorbeugung u. a. bleiben noch zu klären. Wir dürfen weiterhin feststellen, daß die Verbreitung dieser Virosen, soweit sie uns bisher bekanntgeworden ist, zu ernsten Bedenken Veranlassung gibt. Diese Befürchtungen gründen sich einmal auf die Tatsache, daß in den Kreisen der Obstbauer völlige Unklarheit über das Vorkommen derartiger Krankheitserscheinungen besteht und auch erfahrene Obstbauer bisher in Mitteldeutschland nicht in der Lage waren, eine richtige Diagnose zu stellen. Solange hier kein Wandel geschaffen ist, darf auch nicht erwartet werden, daß Maßnahmen einer Bekämpfung bzw. Vorbeugung wirksam werden können. Daß es sich hierbei nicht um ein Problem handelt, das, wie wir ursprünglich selbst annahmen, nur von lokaler Bedeutung ist, möge die Karte der bisherigen Fundorte der Obstvirosen in Mitteldeutschland (Abb. 18)

beweisen, die bei fortgeführten Untersuchungen sicherlich noch eine Ergänzung finden dürfte. Während unsere Aufgabe darin bestehen wird, die begonnene Analyse fortzusetzen und alle damit im Zusammenhang stehenden Probleme zu bearbeiten, muß es Aufgabe aller verantwortlichen Stellen sein, schon heute Maßnahmen zu erwägen, die einer weiteren Ausbreitung wirksam Einhalt gebieten können. Es dürfte im Interesse aller gelegen sein, wenn baldmöglichst eine Überwachung bzw. Überprüfung des zum Verkauf gelangenden Materials erfolgen würde. Als Zukunftsaufgabe muß uns vor Augen stehen, daß das Ausgangsmaterial für Unterlagen- und Reisergewinnung auf Virusfreiheit überprüft worden ist. Wir sind uns bewußt, daß wir von der Verwirklichung dieser Forderung noch weit entfernt sind, wir fühlen uns aber andererseits verpflichtet, schon jetzt darauf hinzuweisen, da zunächst nur auf diesem Wege eine Möglichkeit wirksamer Abhilfe besteht. Die vielerorts auftretenden Klagen über mangelnde Ertragsleistung, die vielfach geäußerten Vermutungen über Unverträglichkeit zwischen Reis und Unterlage u. a. sind in vielen Fällen den Viren zur Last zu legen. Wir verkennen dabei nicht, daß es daneben eine Fülle anderer Schadursachen gibt, die die gleiche Berücksichtigung erfahren müssen, wie wir dies für die Obstvirosen für notwendig erachten.

Abb. 18. Fundorte der durch Übertragung nachgewiesenen Virosen an Stein- und Kernobst in Mitteldeutschland

●	Stecklenberger Krankheit	*(Prunus cerasus)*
▲	Ringfleckenkrankheit	*(P. avium)*
■	Bandmosaik	*(P. domestica)*
□	Bandmosaik	*(P. persica)*
○	Mosaik	*(Malus pumila)*

Literaturverzeichnis

Anonym, 1951: Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. dep. agric., Agric. handb. **10.**

ATANASOFF, D., 1935: Mosaic of stone fruits. Phytopath. Z. **8,** 259—284.

ATKINSON, J. D. and CHAMBERLAIN, E. E., 1948: Apple mosaic in New Zealand. New Zealand j. sci. technol. A **30,** 1—4.

BERKELEY, G. H., CATION, D., HILDEBRAND, E. M., KEITT, G. W. and Moore, J. D., 1951: Necrotic ring spot. In: Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. dep. agric., Agric. handb. **10,** 164—170.

— — and WILLISON, R. S., 1948: Yellows and necrotic ring spot of sour cherries in Ontario: Inoculation experiments. Phytopathology **38,** 509—518.

BLUMER, S., 1953: Viruskrankheiten an Steinobst. Schweizer landw. Mh., H. 9.

— —, 1955: Viruskrankheiten der Obstbäume. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- u. Gartenbau Wädenswil, Flugschr. Nr. 56.

BÖMEKE, H., 1952: Über Virus- und virusverdächtige Krankheiten im niederelbischen Obstanbaugebiet. Mitt. Obstbauversuchsring Altes Land **7,** H. 7/8, 1—14.

CATION, D., 1941: The line pattern virosis of the genus *Prunus*. Phytopathology **31,** 1004—1010.

— —, 1952: Further studies on transmission of ringspot and cherry yellows viruses through seeds. Phytopathology **42,** 4.

— —, BERKELEY, G. H., MILBRATH, J. A., WILLISON, R. S. and ZELLER, S. M., 1951: Line pattern. In: Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. dep. agric., Agric. handb. **10,** 177—182.

CHRISTOFF, A., 1934: Mosaikkrankheit oder Viruschlorose bei Äpfeln. Eine neue Viruskrankheit. Phytopath. Z. **7,** 521—536.

COCHRAN, L. C., HUTCHINS, L. M., MILBRATH, J. A., STOUT, G. L. and ZELLER, S. M., 1951: Ring spot. In: Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms of stone fruits in North America. U. S. dep. agric., Agric. handb. **10,** 72—80.

FISCHER, R., 1953: Über Pfirsichblättrigkeit der Zwetschke. Z. Pflzschutz u. Schädlingsbekämpfg. **6,** 2.

KATWIJK, VAN W., 1953: Virusziekten in de vruchtboomkwekerij. Verslagen en meded. plantenziektenkundige dienst Wageningen Nr. 119.

KOTTE, W., 1951: Die Schmalblättrigkeit der Süßkirsche (Pfeffingerkrankheit) in Deutschland. Phytopath. Z. **17,** 468—471.

KUNZE, L., 1953: Die Pfeffinger Kirschbaumkrankheit auch am Mittelrhein. Pflanzenschutz **5,** 4—7.

— —, 1954: Weitere Untersuchungen über Viruskrankheiten und andere Abbauerscheinungen der Süßkirsche. Pflanzenschutz **6,** 105—108.

LOUW, A. J., 1944: Mottle leaf or mosaic chlorosis of apples. Farming South Africa **19,** 32—34 u. 44.

MULDER, D., 1954: De overbrenging van een virusziekte van zure kers op komkommer. T. plantenziekten **60,** 265—266.

— —, 1955: Het onderzoek van virusziekten van kersen en enkele andere fruitsoorten, Tuinbouwgids 1955.

POSNETTE, A. F. and CROPLEY, R., 1952: A preliminary report on strains of the apple mosaic virus. East Malling res. stat., ann. rep. 1951, 128—130.

RAMSFJELL, T., 1950: Virusjukdommer på eple. Gartneryrket 195.

Reinmuth, E., 1954: Bandchlorose an Pflaumen. Nachrichtenbl. dtsch. Pflzschutzd. (Berlin) n. F. **8**, 48—50.

Thiem, H., 1953: Über Abbaukrankheiten bei Süß- und Sauerkirschen. Nachrichtenbl. dtsch. Pflzschutzd. Braunschweig **5**, 65—70.

Thomas, H. E., 1936/37: Apple mosaic. Hilgardia **10**, 581—588.

Wallace, T., Ogilvie, L., and Swartbrick, T., 1944: Two virus diseases of tree fruits. Gard. chron. ser. 3, **116**, 140—141.

Willison, R. S., 1951: The effects of some stone fruit viruses on cucumber. Plant dis. rep. **35**, 254—255.

— —, Berkeley, G. H. and Chamberlain, G. C., 1948 Yellows and necrotic ring spot of sour cherries in Ontario: Distribution and spread. Phytopathology **38**, 770—792.

Yarwood, C. E., 1953: Quick virus inoculation by rubbing with fresh leaf discs. Plant dis. rep. **37**, 501—502.

Aus dem Institut für Phytopathologie und Pflanzenschutz
der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. E. Reinmuth

Untersuchungen über die Inaktivierung des Tabakmosaikvirus durch Extrakte und Sekrete von höheren Pflanzen und einigen Mikroorganismen

Ein Beitrag zur Frage der Kompostierung tabakmosaikvirushaltigen Pflanzenmaterials

Von

W. Bartels

Mit 2 Abbildungen

Inhalt: A. Fragestellung der Untersuchungen. — B. Material und Methoden. I. Material; 1. Ausgangsmaterial, 2. TMV-haltiger Preßsaft, 3. TMV-haltige Blattscheiben, 4. TMV-haltiger Kochsalzextrakt. II. Pflanzentest. III. Serologischer Test nach Stapp und Bercks. IV. Reversibilitätstest nach Johnson. — C. Experimenteller Teil. I. Beeinflussung des TMV durch Bakterien- und Pilzkulturflüssigkeiten; 1. Die inaktivierende Wirksamkeit von Filtraten bei Mischung von Kulturfiltraten mit TMV-haltigem Preßsaft, 2. Die inaktivierende Wirksamkeit von Kulturflüssigkeiten auf das TMV in TMV-haltigen Blattscheiben (Blattscheibenversuch), 3. Die inaktivierende Wirksamkeit der Filtrate bei Mischung von Kulturfiltraten und TMV-haltigem Kochsalzextrakt (Kontaktzeitversuch), 4. Der Einfluß der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit der Kulturfiltrate von Mikroorganismen, 5. Serologisches Verhalten des TMV nach Filtrateinfluß; II. Beeinflussung des TMV durch Extrakte von grünen Blättern und vergilbendem Laub; 1. Die inaktivierende Wirksamkeit von Extrakten bei Mischung von Extrakten und TMV-haltigem Kochsalzextrakt, 2. Die inaktivierende Wirksamkeit von Extrakten bei Mischung von Extrakten und TMV-haltigem Preßsaft, 3. Die inaktivierende Wirksamkeit verschiedener Laubarten bei Aufbewahrung TMV-haltiger Tabakblätter in sich zersetzender Pflanzenmasse, 4. Versuch über die Reversibilität der durch einige Blatt- und Laubextrakte hervorgerufenen Inaktivierung, 5. Der Einfluß der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit einiger Blatt- und Laubextrakte, 6. Serologisches Verhalten des TMV nach Extrakteinfluß; III. Die Beeinflussung des TMV durch Ablaufwasser von Kulturpflanzen und durch Kompost- und Erdextrakte; 1. Die inaktivierende Wirksamkeit von Ablaufwassern von in Glaswolle angezogenen Pflanzen gegenüber TMV in Preßsaft, 2. Die inaktivierende Wirksamkeit von Ablaufwassern von in Sand und Erde angezogenen Pflanzen gegenüber TMV in Kochsalzextrakt (Kontaktzeitversuch), 3. Der Einfluß der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit einiger Ablaufwasser, 4. Serologisches Verhalten des TMV nach Beeinflussung durch Ablaufwasser, 5. Die inaktivierende Wirksamkeit einiger Kompostextrakte auf TMV in Preßsaft. — D. Zusammenfassung und Ausblick auf die Frage der Kompostierung TMV-haltigen Pflanzenmaterials. — Literaturverzeichnis.

A. Fragestellung der Untersuchungen

Die Versuche der in einer früheren Arbeit (Bartels 1955) erwähnten Autoren wurden vor allem angestellt, um ganz einfach das Ausmaß der Hemmwirkung bestimmter Substanzen gegenüber Viren festzustellen und die Eigenschaften der Hemmstoffe (Utech und Johnson 1950, Goldin 1938 und viele andere) zu klären. Daneben sollte über den Einfluß der Hemmwirkung auf das Virus etwas ausgesagt und daraus auf den Infektionsmechanismus geschlossen werden (Gupta und Price 1950, 1952). Schließlich sollte die Übertragung und die Beeinflussung des Virus, insbesondere des Tabakmosaikvirus (TMV) durch den Boden klargestellt werden (Johnson und Ogden 1929).

Die vorliegende Arbeit soll sich befassen mit Versuchen über die Beeinflussung des für Tabak- und Tomatenkulturen so gefährlichen TMV durch:

Kulturfiltrate von Bakterien und Pilzen,
Extrakte von grünen Blättern und vergilbendem Laub,
Wurzelablaufwasser von Kulturpflanzen sowie
einige Erd- und Kompostextrakte.

Es war das Ziel der Untersuchungen, unter Anwendung der verschiedensten Methoden zu prüfen, ob das TMV nach Beeinflussung durch Substanzen aus den genannten Gruppen noch infektionsfähig ist. Daneben sollte in allen Fällen, in denen keine völlige Inaktivierung durch die Substanzen erfolgte, der ungefähre Grad der Infektiositätsminderung festgestellt werden.

Außerdem wurde herausgearbeitet, wie einzelne der untersuchten Hemmstoffe sich gegenüber dem TMV bei verschiedenen pH-Werten verhalten, wie die Mischung von Hemmstoff und TMV serologisch reagiert, welchen Einfluß die Länge der Kontaktzeit zwischen Hemmstoff und Virus auf die Infektiosität des Gemisches hat und ob die durch die Hemmsubstanzen hervorgerufene Inaktivierung in bestimmtem Grade reversibel ist.

Aus den Untersuchungen sollen — unter Berücksichtigung der in der früheren Arbeit (Bartels 1955) ausführlich behandelten Ergebnisse der verschiedensten Autoren — Schlußfolgerungen gezogen werden für pflanzenhygienische Maßnahmen gegenüber dem TMV, insbesondere im Zusammenhang mit der Kompostierung TMV-haltigen Pflanzenmaterials.

B. Material und Methoden

I. Material

1. Ausgangsmaterial

Alle Untersuchungen wurden durchgeführt mit dem Tabakmosaikvirus (TMV). Zur Verwendung kam der Dahlemer TMV-Stamm „Sagorka". Dieser wurde von Uschdraweit aus einer südosteuropäischen Zigarettensorte gleichen Namens isoliert*).

In Rostock erfolgte die Vermehrung des Stammes auf *Nicotiana tabacum* Samsun im Gewächshaus.

*) Herrn Dr. Uschdraweit, Biologische Bundesanstalt, Berlin-Dahlem, danke ich für die Überlassung des TMV-Ausgangsmaterials und wesentliche Literaturhinweise.

2. TMV-haltiger Preßsaft

Der gewonnene TMV-haltige Preßsaft, welcher nicht sofort in den Versuchen zur Verwendung kam, wurde im Kühlschrank bei etwa + 4° C aufbewahrt. Er erwies sich bei einer Verdünnung von etwa 1 : 500 000 noch als infektionsfähig. Serologisch war er noch bei einer Verdünnung von 1 : 200 nachzuweisen.

3. TMV-haltige Blattscheiben

In einigen Versuchen wurden TMV-haltige Blattscheiben verwendet, ähnlich den TMV-haltigen von JOHNSON und HOGGAN (1937) und den Tabakstrichelvirus-haltigen von UTECH und JOHNSON (1950). Diese wurden mit Hilfe eines Korkbohrers aus systemisch infizierten Samsuntabak-Pflanzen gewonnen und hatten einen Durchmesser von 1 cm. Sie wurden vor ihrer Verwendung im Trockenschrank bei etwa 40° C zwischen Glasplatten, um eine Kräuselung zu verhindern, getrocknet.

4. TMV-haltiger Kochsalzextrakt

In einem großen Teil der Versuche kam, aus später näher zu erörternden Gründen, statt TMV-haltigen Preßsafts ein gereinigtes TMV-Produkt, nämlich TMV-haltiger Kochsalzextrakt zur Verwendung. Dieser wurde in enger Anlehnung an die von STAPP (1943) zur Herstellung von Antigenkonzentraten des Kartoffel-X-Virus für die Kaninchenimpfung angegebenen, von PFANKUCH und KAUSCHE (1938, zit. nach STAPP 1943) ausgearbeiteten Methode nach folgendem Schema hergestellt:

1. 100 ccm TMV-haltigen Pflanzensaft mit 14 ccm Chloroform versetzen, 20 bis 30 Minuten rühren, 10 bis 15 Minuten zentrifugieren, Zentrifugat über Nacht im Kühlschrank bei + 4° C stehenlassen.
2. 10 bis 15 Minuten zentrifugieren, Zentrifugat mit 17,5 g Ammoniumsulfat versetzen (etwa 40%ige Sättigung), etwa 30 Minuten zentrifugieren, Sediment in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufnehmen, zu der Aufschwemmung 17,5 g Ammoniumsulfat geben, 10 bis 15 Minuten zentrifugieren.
3. Sediment in 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung (= ein Fünftel des ursprünglichen Pflanzenpreßsaftvolumens) aufnehmen, durchschütteln, größere Teile mit gummibezogenem Glasstab verreiben. 24stündige Dialyse mit Kollodiumfilter, anfangs gegen mehrfach gewechselte physiologische Kochsalzlösung, dann gegen fließendes Leitungswasser (zur Beseitigung von restlichem Ammoniumsulfat).

Das Zentrifugieren erfolgte stets bei etwa 4300 U/Min. Vor der Verwendung im Pflanzentest wurde der gegenüber dem Pflanzenpreßsaft auf das Fünffache konzentrierte TMV-haltige Kochsalzextrakt wieder auf das normale Ausgangsvolumen verdünnt (20 ccm TMV-haltiger Kochsalzextrakt + 80 ccm physiologische Kochsalzlösung).

Der normale TMV-haltige Kochsalzextrakt erwies sich in einer Verdünnung von etwa 1 : 100 000 noch infektionsfähig, serologisch war er in der Regel bei einer Verdünnung von 1 : 10 noch nachzuweisen, ein Beweis dafür, daß durch die Behandlung nicht alles im Pflanzensaft enthaltene TMV erfaßt wird.

II. Pflanzentest

Die Infektiosität der im Versuchsteil näher beschriebenen Mischungen wurde nach der Halbblattmethode getestet auf Blättern von *Nicotiana glutinosa* oder *Nicotiana texana*.

Die Blattabreibungen erfolgten in der Regel mit Merckschem Karborundpuder (Siliciumcarbid, feinkörnig, Nr. 2227), um die Läsionszahl zu erhöhen, wobei auf der linken Blatthälfte die nicht behandelte TMV-Kontrolle und rechts die behandelte TMV-Zubereitung abgerieben wurden.

Die genannten Tabakarten reagieren auf TMV-Infektionen nicht systemisch, sondern die Infektion bleibt in Form der fleckenförmigen Läsionen lokal beschränkt (Abb. 1). Die Abreibungen wurden zu einem geringen Teil auf abgebrochenen Testtabakblättern, deren Stiele in Paraffin getaucht waren, vorgenommen; die sich hierbei ergebenden Läsionszahlen waren aber nicht besonders hoch.

Später wurden sie auf Blättern an Pflanzen im Gewächshaus durchgeführt. Zu einer Läsionsentwicklung kommt es aber nur bei guten Temperatur-, Feuchtigkeits- und vor allem günstigen Belichtungsverhältnissen.

Da von Oktober ab die Belichtungsdauer und die Lichtintensität im Gewächshaus für eine gute Läsionsentwicklung zu gering war, wurden die Versuche im Labor bei künstlicher Belichtung durchgeführt, wobei sich folgende Methode als günstig erwies:

Abb. 1. Unterschiedliche Läsionsbildung auf den beiden Hälften eines *Nicotiana glutinosa*-Blattes nach Durchführung des Halbblatt-Tests. Auf der rechten Hälfte, auf der ein TMV-Birkenblätter-Extraktgemisch (1 TMV + 1 Extrakt + 2 Aqua dest.) abgerieben wurde, zeigen sich auf Grund der Inaktivierung des TMV durch den Birkenblätterextrakt bedeutend weniger Läsionen als auf der mit der TMV-Kontrolle (1 TMV + 3 Aqua dest.) abgeriebenen linken Blatthälfte. Im gesamten Versuch mit Birkenblätterextrakt ergab sich bei der angegebenen Extraktkonzentration eine Inaktivierung des TMV von 57,9 % (Näheres siehe Kapitel C. II)

Die Töpfe der Testtabakpflanzen wurden in Petrischalen von 18 cm Durchmesser auf einen Tisch mit Gummibelag gestellt. Über die Töpfe wurde ein 55 cm hohes, mullbespanntes Gestell mit Deckel gestülpt und anfangs, um eine gleichmäßige Luftfeuchtigkeit von 55 bis 60 % relativer Feuchte zu gewährleisten, während der künstlichen Belichtung stündlich mit Wasser besprüht.

Die Lufttemperatur wurde auf etwa 23 ° C (gemessen in Pflanzenhöhe) konstant gehalten durch Regulierung der Raumtemperatur.

Der eigentliche Beleuchtungsrahmen hing 40 cm über dem mullbespannten Deckel des Gestells (siehe Abb. 2). Auf 1 qm Tischfläche kamen rund 700 W (sieben Glühbirnen à 100 W). Die Beleuchtungsstärke betrug, in Pflanzenhöhe gemessen, etwa 600 Lux.

Abb. 2. Der bei der Durchführung der Pflanzenteste verwendete Beleuchtungsrahmen und das mullbespannte Gestell mit Deckel

Die Testpflanzen, zum Teil 24 Stunden vor der Abreibung mit dem TMV in einen dunklen Raum gebracht, wurden dann zwei bis drei Tage einer Dauerbeleuchtung von 22 bis 23 Stunden/Tag unterworfen, vom dritten bzw. vierten Tage an einer in der Regel zwölfstündigen künstlichen Belichtung/Tag.

Die Pause von einer Stunde/Tag in den ersten zwei bis drei Tagen mußte eingeschaltet werden, damit sich die Beleuchtungsanlage abkühlte und die Pflanzen die

angesammelten Assimilate ableiten konnten. Wurden diese Pausen nicht eingeschaltet oder wurde, was besonders ungünstig war, die täglich gegebene 22- bis 23stündige Beleuchtung länger als zwei bis drei Tage ausgedehnt, so war ein starkes Welken der Blätter festzustellen und das Auftreten flächenförmiger Nekrosen, die für die Versuchsauswertung wertlos waren. Diese Erscheinungen traten in ähnlicher Form auch bei zu hoher Temperatur und zu geringer Luftfeuchtigkeit auf.

Im großen Durchschnitt der Fälle war der Beginn der TMV-Läsionsbildung bei künstlicher Beleuchtung schon am dritten Tage wahrzunehmen auf Pflanzen von *Nicotiana glutinosa*. Bei *Nicotiana texana* war die Läsionsbildung erst etwas später festzustellen, die Zahl der Läsionen war dafür aber größer als bei *Nicotiana glutinosa*.

Die Blätter mit den Läsionen wurden am sechsten bis siebenten Tage nach der Abreibung abgebrochen, zwischen Löschpapier einige Tage getrocknet, dann wurden die Läsionen ausgezählt und die zu einer Wiederholungsserie gehörenden Zahlen summiert. Danach wurden die linken (mit unbehandeltem TMV abgeriebenen) Blatthälften mit den rechten (mit behandeltem TMV abgeriebenen) Blatthälften verglichen und die Inaktivierung des TMV durch die Behandlung nach der Formel errechnet:

$$100 - \frac{\text{Läsionen TMV behandelt} \times 100}{\text{Läsionen TMV unbehandelt}} = \% \text{ Inaktivierung}$$

Zur Versuchsauswertung ist zu sagen, daß viele Verfasser in ihren Arbeiten keine Inaktivierungsprozente angeben (z. B. JOHNSON 1941, MANIL 1949), sondern nur das Zahlenverhältnis der Läsionen von unbehandelt : behandelt, was aber nicht sehr übersichtlich ist. Eventuell tun die Verfasser das aus grundsätzlichen Erwägungen.

BAWDEN (1950) ist nämlich der Meinung, daß man auf Grund von Testpflanzen-Abreibungen nicht ohne weiteres auf die Inaktivierung eines Virus durch irgendeine Substanz schließen kann. BAWDEN kommt wohl zu dieser Meinung durch die Überlegung, daß durch die z. B. dem TMV zugesetzte Substanz zwei Vorgänge ausgelöst werden können:

1. Spaltung anomal langer Molekülaggregate von über 280 mμ zu Molekülen normaler Länge,
2. Blockierung spezifischer Gruppen im oder am Virusmolekül.

Der erste Vorgang bedingt eine Aktivitätserhöhung des Virus durch Zunahme der infektiösen Teilchen, der zweite bedingt eine Abnahme der Infektiosität. Darüber hinaus besteht noch die Möglichkeit, daß die Hemmsubstanz nicht nur direkt auf das Virus wirkt, sondern die Empfänglichkeit der Wirtspflanze wesentlich verändert, wie das z. B. für *Trichothecium roseum*-Filtrat von GUPTA und PRICE (1952) festgestellt wurde. Alle drei Wirkungen können sich aber überschneiden, so daß unter diesem Gesichtspunkt eine einwandfreie Auswertung von Pflanzentests nicht möglich wäre, da sich bei Zusatz derselben Substanz zu einem Virus die Aktivitätszunahme, die Inaktivierung und die Veränderung der Empfänglichkeit der Wirtspflanze überschneiden.

Andere Verfasser (JOHNSON und HOGGAN 1937, GUPTA und PRICE 1950) geben aber Inaktivierungsprozente in ihren Arbeiten an.

In der vorliegenden Arbeit wird ebenfalls die Abnahme der Infektiosität des TMV durch die untersuchten Substanzen in Prozent Inaktivierung ausgedrückt; denn meines Erachtens kann man diesen Begriff ohne weiteres an-

wenden, wenn man sich dessen bewußt ist, daß man nur die nachweisbare Inaktivierung errechnet, und wenn man weiß, daß dieser Wert evtl. eine Differenz der drei Größen Aktivitätszunahme, Inaktivierung und Veränderung der Empfänglichkeit der Wirtspflanze sein kann.

Auf eine mathematische Sicherung der erhaltenen Werte wurde verzichtet, da es sich in den vorliegenden Untersuchungen nur um ungefähr abgestufte Wirkungen bestimmter Substanzen gegenüber dem TMV handelt und nicht um absolut vergleichbare Größen.

Bei der Feststellung dieser erhaltenen Wirkungen in Form der Inaktivierungsprozente ist aber anzunehmen, daß alle Ergebnisse, die von der Kontrolle nur wenig abweichen, zweifelhaft sind. Die Grenze der Abweichungen, die in der Literatur für Halbblatt-Tests mit TMV-Verdünnungen auf *Nicotiana glutinosa* gefordert werden, schwanken zwischen ± 20 % (Loring 1937, zit. nach Bawden 1950) und ± 10 % (Spencer und Price 1943, zit. nach Bawden 1950).

In eigenen Versuchen wurden Abreibungen der als Kontrolle meistens verwendeten Mischung 1 Teil TMV-Zubereitung + 3 Teile Aqua dest. sowohl auf der linken als auch der rechten Seite von 46 Testtabakblättern vorgenommen. Dabei ergaben sich insgesamt links 725 und rechts 646 Läsionen, d. h. es traten rechts 10,8 % weniger Läsionen auf als links.

Dieser Unterschied würde aber, wenn man keine Grenze der Abweichungen von der TMV-Kontrolle festsetzt, in späteren Versuchen evtl. als Inaktivierung auftauchen, ohne daß eine solche vorliegt.

In der vorliegenden Arbeit werden deshalb Substanzen, deren Inaktivierungsprozente weniger als ± 20 % von der Kontrolle abweichen, nicht als inaktivierend bzw. stimulierend angesprochen. Beim Vergleich von Substanzen mit Inaktivierungsprozenten, die außerhalb dieser ± 20 % Abweichungen liegen, mußten jedoch auch Differenzen unter ± 20 % berücksichtigt werden. Dieses wurde getan, um zu einer ungefähren graduellen Abstufung der inaktivierenden Wirksamkeit der einzelnen geprüften Substanzen zu kommen.

III. Serologischer Test nach STAPP und BERCKS

Der Verfasser hatte im Dezember 1952 Gelegenheit, sich im Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig in die von Stapp und Bercks ausgearbeitete Methode des serologischen Nachweises der Kartoffelviren X, Y und A einzuarbeiten*).

Im dortigen Institut wird nach der Blättchenmethode gearbeitet, d. h. die Seren werden an Papierblättchen bestimmter Größe angetrocknet (Bercks 1950). Es ist damit gewährleistet, daß nur kleinste Mengen Serum für jede Probe verbraucht werden und außerdem die Zahl der unspezifischen Reak-

*) Herrn Oberregierungsrat Dr. Stapp, Herrn Regierungsrat Dr. Bercks und insbesondere Herrn Dr. R. Bartels möchte ich Dank sagen für die freundliche Aufnahme während eines zehntägigen Aufenthaltes im Institut und die wertvollen Hinweise bei der Einarbeitung in die Methodik des serologischen Virusnachweises.

tionen — das sind Eiweißverklumpungen, die unter gewissen Umständen eine durch Virusanwesenheit bedingte Agglutination vortäuschen können — wesentlich herabgesetzt wird.

Das TMV-Antiserum wurde für die vorliegenden Untersuchungen in Anlehnung an die von STAPP (1943) angegebene Methode auf folgendem Wege hergestellt:

Der unter B I-4 „Material" beschriebene TMV-haltige Kochsalzextrakt wurde in fünf- oder zehnfach konzentrierter Form (gegenüber dem TMV-haltigen Pflanzensaft) Kaninchen als Antigen intravenös eingespritzt, wobei die Dosis langsam gesteigert wurde. In der Regel wurden verimpft: 1, 1, 2, 3, 3, 4, 4, 4 ccm. Zwischen den Impfungen wurden jeweils zwei Tage Pause eingeschaltet, nach der letzten Impfung eine Woche. Es erfolgte dann, in der Regel nach eintägigem Hungern, eine Probeblutentnahme aus der Ohrvene.

Die entnommene Blutmenge von 1 ccm wurde in einem sterilen Reagenzglas aufgefangen, mehrere Stunden in einen Kühlschrank bei + 4° C gestellt, schließlich wurde mit einem dünnen Glasstab der Blutkuchen vom Rande des Reagenzglases gelöst. Über Nacht im Kühlschrank trennten sich dann Serum und Blutkuchen.

Das Serum wurde abgegossen, bei 3000 U/Min. fünf bis zehn Minuten zentrifugiert und eine Verdünnungsreihe hergestellt.

Von den verschiedenen Serumverdünnungen wurden dann nebeneinander zwei Tropfen auf Objektträger gebracht und dazu je ein Tropfen TMV-Kochsalzextrakt gegeben, schließlich mit Glasstäbchen umgerührt und die Tropfen 20 Minuten im Brutschrank bei 23° C bebrütet. Bei 30- bis 50facher Vergrößerung fand dann im Auflicht die mikroskopische Beurteilung der, durch Vereinigung von Antigen und Antikörper bedingten, Agglutination statt, wobei das im Kochsalzextrakt enthaltene TMV als Antigen wirkt und sich mit dem — als Reaktion auf die TMV-Impfung vom Tier gebildeten — Antikörper des sogenannten Antiserums vereinigt. In günstigen Fällen wurde bei Zusammengabe von je einem Tropfen TMV-Kochsalzextrakt und einer Antiserumverdünnung von 1 : 500 noch eine deutliche Agglutination festgestellt.

Um unspezifische Reaktionen auszuschließen, wurden natürlich auch Kontrollen mit TMV-Kochsalzextrakt + Normalserum nicht geimpfter Kaninchen durchgeführt. Da die Möglichkeit besteht, daß der gewonnene TMV-Kochsalzextrakt noch eine geringe Menge gesundes Pflanzeneiweiß enthält, können bei der Verimpfung dieses TMV-Extrakts vom Kaninchen Antiseren gebildet werden, die auch mit gesundem Pflanzeneiweiß eine Agglutination ergeben. Es wurde deshalb nach der für den TMV-haltigen Kochsalzextrakt angegebenen Methode auch ein Extrakt aus gesundem Pflanzensaft hergestellt, der aber in keinem Falle mit den gewonnenen TMV-Antiseren agglutinierte. Das war ein Beweis dafür, daß in dem nach der genannten Methode gewonnenen TMV-haltigen Kochsalzextrakt keine störenden Beimengungen gesunden Pflanzeneiweißes enthalten sind und somit eine Agglutination mit größter Wahrscheinlichkeit auf vorhandenes TMV hinweist.

Um einwandfreie Versuchsergebnisse zu erhalten, wurde beim Agglutinationstest die Verwendung TMV-haltigen Preßsafts zugunsten des TMV-haltigen Kochsalzextraktes vermieden.

Wenn das aus dem Probeblut gewonnene Serum einen Titer von 1 : 500 hatte, wurden dem Kaninchen nach eintägigem Hungern durch Herzpunktion 25 bis 30 ccm Blut entnommen und Antiserum in der obenbeschriebenen Weise gewonnen. War der Titer des Antiserums der Probeblutentnahme zu gering, so wurde durch weitere intravenöse Spritzungen in Dosen von jeweils 4 ccm TMV-haltigen Kochsalzextrakts (fünf- bis zehnfach konzentriert gegenüber dem TMV-haltigen Preßsaft) versucht, diesen zu erhöhen. Die Hauptblutentnahme erfolgte dann später.

Die Aufbewahrung der Antiseren erfolgte bei + 4° C ohne chemischen Zusatz in 25-ccm-Zentrifugengläsern, die mit einem Gummikorken verschlossen wurden. Diese Methode erwies sich als zweckmäßiger und sparsamer als die Aufbewahrung in zugeschmol-

zenen Ampullen, da das Antiserum vor Gebrauch stets fünf Minuten bei 1500 U/Min. zentrifugiert werden muß, was in der Ampulle nur schwer möglich ist.

Den nicht geimpften Kontrollkaninchen wurde ebenfalls durch Herzpunktion Blut entnommen und daraus Normalserum gewonnen. Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden die Kaninchen mit physiologischer Kochsalzlösung getränkt. Die meisten Kaninchen nahmen diese ohne weiteres an, nachdem sie sich durch tägliches Tränken daran gewöhnt hatten.

Vier bis sechs Wochen nach der Entblutung konnte festgestellt werden, daß probeweise gewonnenes Antiserum zwar noch deutlich mit TMV in Form einer Agglutination reagierte, aber nur einen Titer von 1 : 10 hatte. Die Tiere wurden nun wiederum neu geimpft mit TMV-haltigem Kochsalzextrakt (fünf- bis zehnfach konzentriert gegenüber dem TMV-haltigen Preßsaft), jedoch empfahl es sich, die Anfangsdosis nicht zu hoch zu setzen und zuerst 1 ccm zu spritzen, um tödlich verlaufende anaphylaktische Schocks zu vermeiden. Das Kaninchen wurde dabei besonders auf Appetitlosigkeit beobachtet.

Traten bei dem Kaninchen keine Symptome irgendeiner Überempfindlichkeit auf, so wurde die Dosis individuell gesteigert, je nach der erfahrungsgemäßen Empfindlichkeit des Tieres. Zum Beispiel vertrug ein Kaninchenbock (Pollux II) bei Wiederholungsimpfungen ohne weiteres bereits eine Anfangsdosis von 4 ccm!

Zur eigentlichen Versuchsanstellung ist zu sagen, daß bei Feststellung des Einflusses von Inaktivatoren auf die serologische Reaktion (= Agglutination) jeweils ein Tropfen TMV-Kochsalzextrakt (normale Konzentration), inaktivierende Substanz und TMV-Antiserum zusammengegeben wurden. Nach Umrühren und Bebrütung bei 23° C/20 Minuten wurden die Proben dann mikroskopisch bei 30- bis 50facher Vergrößerung auf das Vorhandensein einer Agglutination und deren Stärke untersucht.

Dabei wird von einer Agglutination im Sinne der in der Bakteriologie üblichen Definition gesprochen (z. B. Habs 1954). Danach werden unterschieden:

a) Reaktion eines Antiserums mit geformten Antigenen (die als Bakterien volle Infektiosität haben) = Agglutination;

b) Reaktion eines Antiserums mit gelösten Antigenen (die als Lösungen nur bestimmte in Lösung gehende Bakterienstoffe, jedoch keine infektiösen Teilchen mehr enthalten) = Präzipitation.

In der Virologie werden beide Begriffe nebeneinander angewendet. So gebraucht z. B. Bawden (1950) bei der Besprechung der serologischen Reaktionen in vielen Tabellen die Bezeichnung Präzipitationstest, während in den entsprechenden Bildunterschriften von agglutinierenden Teilchen gesprochen wird.

Stapp (1943) gebraucht in seiner Arbeit über die von ihm ausgearbeitete serologische Methode des Nachweises der am Kartoffelabbau beteiligten Viren, ebenso wie van Koot, van Slogteren, Cremer und Camefferman (1954) beim serologischen Nachweis von Freesia-Viren, den Ausdruck Präzipitintest.

Für den sich ergebenden Niederschlag benutzt Stapp (1950) den Ausdruck Präzipitat, die letzte Bezeichnung verwendet auch R. Bartels (1954), während Bercks (1949 und 1950) nicht die Bezeichnungen Agglutination oder Präzipitation anwendet, sondern schlechthin von starken oder schwachen Reaktionen spricht.

In der vorliegenden Arbeit wird stets der Begriff „Agglutination" angewendet, da es sich ja einmal bei den benutzten Viruspräparationen nicht um echte Lösungen handelt und da zum anderen die in der Präparierung vorhandenen TMV-Moleküle noch voll infektiöse Teilchen sind.

IV. Reversibilitätstest nach JOHNSON

Bei Versuchen über die Reversibilität der durch Chemikalien bedingten Inaktivierung des TMV wandte JOHNSON (1941) die Agar-Scheibenmethode an. Nur wenig abgewandelt wurde sie in den vorliegenden Versuchen zur Reversibilitätsprüfung von Extrakten grüner Blätter und vergilbenden Laubs verwendet. Die TMV-haltigen Agarscheiben wurden nach folgender Methode hergestellt:

4%ige Agarlösung wurde auf 80° C erhitzt. Ebenso wurde zehnfach konzentrierter TMV-haltiger Kochsalzextrakt im Wasserbad auf 50° C erwärmt. Dann wurden 20 ccm Agar mit 10 ccm TMV-Extrakt in Petrischalen von 9 cm Durchmesser gegossen und durch Hin- und Herbewegen gemischt. Wenn der Agar nach Aufbewahrung im Kühlschrank bei + 4° erstarrt war, wurden mit einem Korkbohrer die TMV-haltigen Agarscheiben von 1,5 cm Durchmesser ausgestanzt.

Diese wurden dann für 24 Stunden in die zu prüfende inaktivierende Flüssigkeit gelegt, wobei eine Diffundierung dieser Flüssigkeit in die Agarscheiben deutlich an deren allmählicher Verfärbung zu erkennen war, die sich den flüssigen Medien anglich.

Nach Ablauf der 24 Stunden wurde ein Teil der Agarscheiben auf Testtabak nach der Halbblattmethode auf der rechten Blatthälfte abgerieben, indem jeweils zwei gleich behandelte Scheiben auf einen kleinen Mulltupfer gelegt und dann unter Zusatz von 6 ccm Aqua dest. zerquetscht wurden und der Quetschsaft zur Abreibung benutzt wurde.

Ein anderer Teil der Agarscheiben wurde nach dem Verlauf der 24stündigen Behandlung in Aqua dest. gewässert. Das Wasser mußte wiederholt erneuert werden, da es sich oftmals verfärbte und die Agarscheiben ziemlich stark auslaugte. Nach weiteren 36 Stunden erfolgte dann ebenfalls die Abreibung auf Testtabak.

Die später auf der linken Blatthälfte verimpften TMV-haltigen Kontrollscheiben wurden genau so behandelt, nur daß bei ihnen an Stelle der inaktivierenden Flüssigkeit Aqua dest. trat. Die Auswertung der Versuche geschah, wie beim Pflanzentest bereits geschildert, durch Feststellung der Inaktivierungsprozente.

Darüber hinaus wurden aber die Inaktivierungswerte der Serien „mit flüssigem Inaktivator behandelt" und „mit flüssigem Inaktivator behandelt und anschließend gewässert" verglichen und aus dem Vergleich auf die Reversibilität der Inaktivierung geschlossen.

C. Experimenteller Teil

I. Beeinflussung des TMV durch Bakterien- und Pilzkulturflüssigkeiten

1. Die inaktivierende Wirksamkeit von Filtraten bei Mischung von Kulturfiltraten mit TMV-haltigem Preßsaft (s. Tab. 1)

a) Methodik: Sämtliche Mikroorganismen wurden in Fernbach-Kulturkolben angezogen. Das Nährmedium enthielt, abgewandelt nach GUPTA und PRICE (1950),

20 g Kartoffelstärke
20 g Dextrose
5 g Witte-Pepton
1000 ccm Leitungswasser

Die Mischung wurde gekocht. Jeweils 200 ccm des dickflüssigen Nährbodens wurden in die Fernbachkolben gegeben und anschließend, nach Erreichung des vollen Dampfdrucks, eine Stunde autoklaviert.

Die Überimpfung der Pilze bzw. Bakterien erfolgte von Schrägagarkulturen.

Nach vier bis acht Wochen wurden die Kulturfiltrate gewonnen, diese waren mehr oder weniger bräunlich gefärbte Flüssigkeiten, die im Gegensatz zum unbeimpften flüssigen Nährboden, mit Ausnahme der Filtrate der Bakterienkulturen, durchsichtig und dünnflüssig waren.

Soweit notwendig, wurden die Filtrate durch Papierfilter gegeben und dann in verschlossenen Flaschen bei etwa + 4° C im Kühlschrank aufbewahrt.

Es wurden stets etwa gleich alte Kulturen verwendet, wobei aber z. B. die gebildete Myzelmenge der einzelnen Pilze sehr unterschiedlich war. Die jeweils gebildete Myzelmenge ließ sich leider nicht genau feststellen. Bei Trockengewichtsbestimmungen stellte sich nämlich heraus, daß bei schwacher Myzelbildung der relativ dickflüssige Nährboden sich nicht einwandfrei vom Myzel trennen ließ und somit nur das Trockengewicht von Myzel und restlichen Nährbodenteilen festzustellen war.

1 Teil Kulturfiltrat wurde dann mit 1 Teil TMV-haltigem Preßsaft und 2 Teilen Aqua dest. gemischt und über Nacht stehengelassen. Am nächsten Tage erfolgte die Abreibung nach der Halbblattmethode, wobei als Kontrollen entsprechende TMV-Verdünnungen dienten.

b) Besprechung der Einzelergebnisse: Wie aus der Tabelle 1 über die ungepufferten Mischungen von Kulturfiltraten und TMV hervorgeht, erwiesen sich, im Durchschnitt von drei Versuchen auf insgesamt 20 Blättern, von den 16 getesteten Mikroorganismen 13 als einwandfrei inaktivierend gegenüber dem TMV, ein Vertreter liegt innerhalb der als üblich angenommenen Abweichung von ± 20 % von den Kontrollblatthälften und kann deshalb nicht als inaktivierend angesprochen werden, zwei Vertreter wirkten stimulierend. Dabei dürfte auch die Höhe der erhaltenen Läsionszahlen deutliche Schlüsse zulassen.

Besonders fällt ins Auge, daß der verwendete nicht beimpfte dickflüssige Nährboden sowohl mit als auch ohne Peptonzusatz als N-Quelle inaktivierend wirkt. Vielleicht liegt das an der Dickflüssigkeit des Mediums, das evtl. eine Adsorption bedingen könnte. Diese Adsorption des TMV käme dann in dem dünnflüssigen Filtrat der Kulturen nicht in der gleichen Höhe zur Auswirkung, so daß bei den Mikroorganismen, die geringere Inaktivierungsprozente als der nicht beimpfte Nährboden erreichen, noch eine wirkliche, auf die Toxizität des Filtrats zurückzuführende Inaktivierung vorliegt.

Die Mikroorganismen wurden in der tabellarischen Übersicht nach ihrer inaktivierenden Wirksamkeit geordnet. Eine völlige Inaktivierung wurde von keinem der Pilz- und Bakterienkulturfiltrate hervorgerufen. Jedoch ist besonders der hohe Wert von *Fusarium oxysporum* (92,3 % Inaktivierung) zu bemerken, der den von Johnson und Hoggan (1937) mit 96,3 % angegebenen annähernd erreicht und den von Utech und Johnson (1950) mit 82,2 % noch überschreitet.

Trichothecium roseum, mit 64 % an zweiter Stelle stehend, ist in diesem Versuch mit TMV-Preßsaft nicht ganz so wirksam wie Gupta und Price (1950) mit 99 % angeben.

Sclerotinia fructigena, an fünfter Stelle mit 54,2 %, wirkte ebenfalls nicht so stark inaktivierend wie in Versuchen von JOHNSON und HOGGAN (1937) mit 99 %!

Ebenso erreicht der Wert der *Rhizopus*-Species mit 41 % nicht den von UTECH und JOHNSON (1950) angegebenen Wert für *Rhizopus* ssp. (Plus- und Minusstämme) von 76 bis 100 %.

Recht unerklärlich ist allerdings die, auch in weiteren eigenen Versuchen mit der gleichen Pilzherkunft sich bestätigende, in Versuchen mit einer anderen Herkunft des Pilzes jedoch nicht wiederkehrende, stimulierende Wirkung des Filtrates von *Rhizoctonia solani* auf + 85 % der TMV-Kontrollen, während KLINKOWSKI (1954) maximal eine Inaktivierung von 98,5 % erzielte, JOHNSON und HOGGAN (1937) eine inaktivierende Wirkung von 98,2 % feststellten und GUPTA und PRICE (1950) diesen Pilz in die Gruppe einrangieren, die eines der drei Viren Südliches Bohnenmosaik, Tabaknekrose oder TMV 20- bis 80%ig inaktivieren.

Die restlichen Bakterien- bzw. Pilzspezies sind in Veröffentlichungen anderer Autoren nicht genannt, so daß ein Vergleich nicht möglich ist.

Schon aus der in einer früheren Arbeit (BARTELS 1955) wiedergegebenen tabellarischen Zusammenstellung im Abschnitt „Bakterien und Pilze als aktivitätsbeeinflussende Faktoren" geht hervor, daß die verschiedenen Autoren durchaus nicht immer zu gleichen Inaktivierungsergebnissen kommen. Deshalb ist ein Unterschied zwischen den Inaktivierungsprozenten aus eigenen Versuchen und denen aus Versuchen anderer Autoren durchaus erklärbar.

Einmal kann das eine Konzentrationsfrage sein, indem höhere Inaktivierungsprozente mit einer Mischung erzielt wurden, die ein größeres Volumen an Pilzzubereitung enthielt.

Zum anderen ist es aber auch möglich, daß nicht nur, wie auch aus der schon genannten tabellarischen Übersicht der früheren Arbeit hervorgeht, die einzelnen Spezies verschieden wirken, sondern auch bestimmte besonders inaktivierend wirkende Biotypen (oder Subspezies) bzw. Pilzherkünfte existieren.

Zum dritten kann die inaktivierende Wirksamkeit der gleichen Spezies verschieden sein durch Unterschiede in der Herkunft und den Ernährungsverhältnissen, wie KLINKOWSKI (1954) im Zusammenhang mit einer durch *Rhizoctonia solani hervorgerufenen* Inaktivierung nachwies und in welche Richtung auch die eigenen Ergebnisse mit Kulturfiltraten von *Alternaria tenuis*-Apfelherkunft (33,7 % Inaktivierung) und Kartoffelherkunft (10,1 %) deuten.

Zur Ergänzung sei noch mitgeteilt, daß bei Abreibungen der Mischung von 1 Teil Aqua dest. und 3 Teilen Filtrat eines jeden Mikroorganismus, also ohne jeden TMV-Zusatz, sich nur in einem Falle läsionsähnliche Erscheinungen auf den Testblättern ergaben, nämlich bei *Trichothecium roseum.*

Tabelle 1

Einfluß der Pufferung auf die Inaktivierung des TMV durch Pilz- und Bakterienfiltrate unter Verwendung TMV-haltigen Preßsafts als Virusquelle

Durchschnitt von drei Testversuchen.

Mischungsverhältnis: I. 1 TMV-Preßsaft + 1 Filtrat + 2 Aqua dest., Kontrolle: 1 TMV-Preßsaft + 3 Aqua dest.
II. 1 TMV-Preßsaft + 1 Filtrat + 2 Puffergemisch, Kontrolle: 1 TMV-Preßsaft + 1 Aqua dest. + 2 Puffergemisch
III. 1 TMV-Preßsaft + 1 Filtrat + 2 Puffergemisch, Kontrolle: 1 TMV-Preßsaft + 3 Aqua dest.

Kulturfiltrat von:	I. Summe von jeweils 20 Blättern TMV ungepuffert: Filtrat + TMV ungepuffert		II. Summe von jeweils 12 Blättern TMV gepuffert : Filtrat + TMV gepuffert		III. Summe von jeweils 12 Blättern TMV ungepuffert: Filtrat + TMV gepuffert	
	Läsionen links : rechts	Inaktivierung %	Läsionen links : rechts	Inaktivierung %	Läsionen links : rechts	Inaktivierung %
1. *Fusarium oxysporum*	194/15	92,3	42/39	7,1	94/90	4,3
2. *Trichothecium roseum* Stamm 1	275/99	64	19/36	+89,5	107/110	+ 2,8
3. *Thielavia basicola*	94/36	61,8	104/63	39,4	146/78	46,6
4. *Fusarium sambucinum*	198/75	62,1	40/43	+ 7,5	136/91	33,1
5. *Sclerotinia fructigena*	142/65	54,2	18/9	50	123/215	+74,8
6. Isolierung von *Nectria cinnabarina*	241/116	51,9	38/41	+ 7,9	47/83	+76,6
7. Bakterienstamm R_1	140/73	47,9	14/25	+78,6	74/106	+43,2
8. *Rhizopus* sp.	195/115	41	40/41	+ 2,5	94/120	+27,7
9. *Corynebacterium michiganense*	190/113	40,5	34/29	14,7	73/56	23,3
10. *Cladosporium cucumerinum*	166/100	39,8	49/24	51	65/71	+ 9,2
11. Nährboden mit Pepton (nicht beimpft)	159/98	38,4	42/36	14,3	71/108	+52,1
12. Nährboden ohne Pepton (nicht beimpft)	221/141	36,2	24/32	+33,3	165/125	24,2
13. *Alternaria tenuis* v. Apfel	175/116	33,7	47/46	2,1	102/69	32,4
14. *Penicillium luteum*	139/99	28,8	27/52	+92,6	69/84	+21,7
15. *Aspergillus versicolor*	154/110	28,6	60/60	0	77/66	14,3
16. *Alternaria tenuis* v. Kartoffel	189/170	10,1	89/104	+16,9	104/63	39,4
17. *Cladosporium herbarum*	124/191	+54	16/19	+18,8	134/239	+78,4
18. *Rhizoctonia solani* Stamm 1	55/102 (nur 8 Blätter)	+85,5	14/73 (nur 8 Blätter)	+421,4	4/7	+75,0

2. Die inaktivierende Wirksamkeit von Kulturflüssigkeiten auf das TMV in TMV-haltigen Blattscheiben (Blattscheibenversuch, Tab. 2)

a) Methodik: Die Anzucht der Kulturen von Bakterien und Pilzen war die gleiche, wie im vorigen Abschnitt geschildert.

Die Herstellung der TMV-haltigen Blattscheiben wurde im Kapitel B I—3 „Material" besprochen.

Die TMV-Blattscheiben wurden vier bzw. neun Wochen in Fernbach-Kolben in der Kulturflüssigkeit unter den Kulturen aufbewahrt. Die Austestung erfolgte im Halbblatt-Test, indem zu jeder TMV-haltigen Blattscheibe 1 ccm Aqua dest. zugesetzt wurde. Auf den Kontrollblatthälften wurden trocken aufbewahrte TMV-haltige Blattscheiben abgerieben.

b) Im ersten Versuch nicht geprüfte Mikroorganismen: Die im vorigen Versuch nicht geprüften Mikroorganismen Hefe und *Cylindrocarpon* sp. zeigten beide eine weitgehende Inaktivierung des in den Blattscheiben enthaltenen TMV im ersten Test. Im zweiten Test liegt der erhaltene Wert der Hefe innerhalb der ± 20 % Abweichung, sie kann also nicht als inaktivierend oder stimulierend angesehen werden, während *Cylindrocarpon* sp. wiederum inaktivierend wirkte.

Tabelle 2

TMV-haltige Blattscheiben in Pilz- und Bakterienkulturflüssigkeiten

Kulturfiltrat von:	1. Test nach 4 Wochen Aufbewahrung der TMV-haltigen Blattscheiben		Inaktivierung %	2. Test nach 9 Wochen Aufbewahrung der TMV-haltigen Blattscheiben		Inaktivierung %
	Blattzahl des Testtabaks	Läsionen links : rechts		Blattzahl des Testtabaks	Läsionen links : rechts	
1. *Trichothecium roseum* Stamm 1	8	39 0	100	8	13/5	61,5
2. *Monilia fructigena*	16	76/5	93,4	16	37/1	97,3
3. Bakterienstamm R_1	16	31/3	91,3	16	51/26	49
4. Hefeart	16	44/6	86,4	16	64/76	+18,8
5. *Penicillium luteum*	16	74/14	81,1	16	21/6	71,4
6. *Thielavia basicola*	8	33/8	75,8	16	30/2	93,3
7. *Fusarium sambucinum*	16	67 20	70,2	16	72/28	61,1
8. *Fusarium oxysporum*	16	69/27	60,9	16	9/2	77,8
9. *Aspergillus versicolor*	16	68 31	54,4	16	13/15	+15,4
10. *Cylindrocarpon* sp.	8	43/21	51,2	16	18/5	72,2
11. Nährboden (nicht beimpft)	56	321/188	41,4	32	43/53	+23,3

c) Vergleich zwischen der Hemmstoffeinwirkung auf das TMV in Blattscheiben und das TMV in Preßsaft: Insgesamt gesehen erwiesen sich beim ersten Test nach vierwöchiger Aufbewahrung alle getesteten Mikroorganismen als eindeutig inaktivierend, und zwar liegt in allen Fällen bei den gleichen Mikroorganismen eine stärkere Inaktivierung vor als bei direkter Mischung von Filtrat und TMV-haltigem Preßsaft, mit Ausnahme des *Fusarium oxysporum*-Filtrates.

Allerdings liegen in dem genannten Versuch die Läsionszahlen relativ niedrig. Es ist dies auf die in den Blattscheiben enthaltene TMV-Menge zurückzuführen, welche geringer ist als in den Versuchen, in denen TMV-haltiger Preßsaft zur Verwendung kam, und die außerdem noch mit je 1 ccm Aqua dest. verdünnt wurde.

Die Mikroorganismen wurden nach den im ersten Test sich ergebenden Inaktivierungsprozenten geordnet. Dabei ist besonders hervorzuheben, daß die erreichten Werte für *Trichothecium roseum* (100%ige Inaktivierung) und *Sclerotinia fructigena* (93,4%) den auf den vorigen Seiten bereits besprochenen Werten anderer Autoren, 99%ige Inaktivierung in beiden Fällen, noch näherkommen als im Test mit Mischugen von Filtrat und TMV-haltigem Preßsaft.

d) Einfluß der Aufbewahrungszeit in der Kulturflüssigkeit auf die Inaktivierung des in den Blattscheiben enthaltenen TMV: Im zweiten Test nach neun Wochen Aufbewahrung der TMV-haltigen Blattscheiben in den Kulturflüssigkeiten ergaben sich ebenfalls, mit Ausnahme der Hefekulturflüssigkeit und der *Aspergillus versicolor*-Kulturflüssigkeit, einwandfrei inaktivierende Wirkungen.

Die erhaltenen Inaktivierungsprozente haben aber wegen der außerordentlich geringen Läsionszahlen in den meisten Fällen nur orientierenden Wert.

Deshalb kann auch nur bedingt die Schlußfolgerung gezogen werden, daß mit der längeren Aufbewahrungszeit der TMV-haltigen Blattscheiben in der Kulturflüssigkeit die Inaktivierung zunimmt bei

Sclerotinia fructigena	von	93,4	auf	97,3 %
Thielavia basicola	von	75,8	auf	93,3 %
Fusarium oxysporum	von	60,9	auf	77,8 %
Cylindrocarpon sp.	von	51,2	auf	72,2 %

während sie bei den übrigen Mikroorganismen abnimmt.

Die in nicht beimpften flüssigen Nährböden aufbewahrten TMV-haltigen Blattscheiben zeigen eine absolut größere Infektiosität in beiden Tests als sämtliche anderen in den Kulturflüssigkeiten der verschiedenen Mikro-

organismen aufbewahrten TMV-haltigen Blattscheiben. In der ersten Testung nach vier Wochen tritt eine Inaktivierung auf, die unter dem Wert aller Mikroorganismen liegt, im zweiten Test nach neun Wochen zeigt sich eine Stimulierung, die über dem Wert der beiden anderen stimulierenden Kulturflüssigkeiten liegt.

e) Schlußfolgerungen: Allgemein kann man aus dem Versuch die Schlußfolgerung ziehen, daß das in den Blattscheiben enthaltene TMV in der Regel stärker inaktiviert wird als das im Pflanzensaft verwendete.

Dieses dürfte vor allem zurückzuführen sein auf

1. die größere Hemmstoffmenge, die auf die TMV-haltigen Blattscheiben im Gegensatz zum TMV-haltigen Preßsaft einwirkte;
2. die längere Kontaktzeit zwischen TMV-Blattscheiben und den Hemmstoffen der Mikroorganismen;
3. unter Umständen auf die direkte Berührung der TMV-Blattscheiben mit einzelnen Myzelfäden bzw. Bakterien, die die toxischen Stoffe un-

Tabelle 3

Kontaktzeitversuch mit Pilz- und Bakterienfiltraten, unter

Filtrate	% Inaktivierung gegenüber TMV in Preßsaft	pH-Wert der Filtrate	pH-Wert der Mischung A	A Läsionszahlen links : rechts		
				I	II	III
1. *Fusarium* sp.	92,3	5,3	5,1	54/59	29/22	66/55
2. *Trichothecium roseum* Stamm 1	64,0	7,8	6,3	80/68	22/13	82/15
3. *Trichothecium roseum* Stamm 2	—	7,8	6,5	27/46	22/13	46/37
4. *Sclerotinia fructigena* .	54,2	5,3	3,9	132/108	31/11	98/4
5. Bakterienstamm R_1 ..	47,9	4,4	3.8	18/8	62/24	—
6. *Rhizopus* sp.	41,0	5,2	5,8	96/183	22/7	133/87
7. Nährboden ..... (nicht beimpft)	38,4	4,7	4,3	75/124	51/36	68/19
8. *Penicillium* sp.	28,8	4,8	3,9	24/25	56/5	126/69
9. *Aspergillus* sp.	28,6	7,5	6.8	59/34	30/11	236/12
10. *Rhizoctonia solani* ... Stamm 2	—	5,6	4,5	88/37	62/36	42/23
11. Isolierung aus *Pichia*..	—	5,1	3,8	58/45	60/25	54/61

I. Testung: gemischt, am selben Tage verimpft
II. Testung: gemischt, etwa 2 Wochen später verimpft
III. Testung: gemischt, etwa 4 Wochen später verimpft

mittelbar, gewissermaßen in statu nascendi, an die TMV-Blattscheiben abgeben.

In einer Hinsicht wird die von KASSANIS und KLECZKOWSKI (1948, zit. nach BAWDEN 1950) gemachte Feststellung, daß mit geringer werdender Virusmenge die zur Inaktivierung notwendige Hemmstoffmenge zunimmt, vollauf bestätigt, denn der in der Blattscheibe enthaltenen geringen Menge von TMV steht eine praktisch unbegrenzte Menge von Hemmstoffen der Kulturflüssigkeiten zur Verfügung, so daß der für die Inaktivierung notwendige Höchstbedarf an Hemmstoffen ohne weiteres gedeckt werden kann.

In anderer Hinsicht aber wird offenbar, daß die eben genannte Regel nur eine relative Gültigkeit hat, denn außer dem Mengenverhältnis zwischen Virus und Hemmstoff ist noch insbesondere die Kontaktzeit von großem Einfluß auf die sich ergebende Inaktivierung des Virus.

Darüber hinaus ist es weiterhin selbstverständlich, daß die Regel nur für solche Fälle gilt, bei denen ein bestimmtes minimales Verhältnis der Größenordnungen der Virus- und der Hemmstoffmenge nicht unterschritten oder ein bestimmtes maximales Verhältnis nicht überschritten wird.

Tabelle 3

Verwendung TMV-haltigen Kochsalzextraktes als Virusquelle

Inaktivierung %			pH-Wert der Mischung B	B Läsionszahlen links : rechts			Inaktivierung %		
I	II	III		I	II	III	I	II	III
+ 9,3	24,1	16,7	4,3	101/51	56/22	96/38	49,5	60,7	60,4
15,0	40,9	81,7	7,0	76/54	51/19	112/37	28,9	62,7	67,0
+70,4	40,9	19,6	6,5	23/34	51/19	66/6	+ 47,8	62,7	90,9
18,2	64,5	95,9	3,8	41/24	58/31	41/8	41,5	46,6	80,5
55,7	61,3	—	3,8	92/62	63/5	—	32,6	92,1	—
+90,6	68,2	34,6	6,5	72/188	42/10	101/72	+161,1	66,2	28,7
+65,3	29,4	72,1	4,1	71/82	33/25	83/8	+ 15,5	24,2	90,4
+ 4,2	91,1	45,2	4,1	54/41	42/16	126/50	24,1	61,9	60,3
42,4	63,4	94,9	6,4	30/25	99/10	109/59	16,7	89,9	45,9
58,0	41,9	45,2	4,2	75/47	137/87	84/26	37,4	36,0	69,0
22,4	58,4	+13,0	3,7	34/35	113/57	39/16	+ 2,9	49,6	59,0

Abreibung auf je 12 Blättern
Mischungsverhältnis:
A: 1 TMV-Kochsalzextrakt + 3 Filtrat
B: 1 TMV-Kochsalzextrakt + 1 Filtrat + 2 Aqua. dest.

3. Die inaktivierende Wirksamkeit der Filtrate bei Mischung von Kulturfiltraten und TMV-haltigem Kochsalzextrakt (Kontaktzeitversuch, Tab. 3)

a) Methodik: Kulturfiltrate einiger Mikroorganismen, auf die gleiche Art wie in dem vorletzten Versuch mit TMV-Preßsaft als Virusquelle gewonnen, wurden gemischt mit TMV-haltigem Kochsalzextrakt in normaler, dem Pflanzensaft entsprechender Konzentration. Seine Herstellung wurde im Kapitel B I—4 „Material" eingehend beschrieben.

Die Mischungen wurden mit verschiedenem Filtratgehalt angesetzt und in bestimmten Zeitabständen im Halbblatt-Test ausgetestet (Näheres siehe Kopf der Tabelle 3).

Alle Gemische wurden in verschlossenen Reagenzgläsern im Kühlschrank bei + 4° C aufbewahrt. TMV-haltiger Kochsalzextrakt wurde in dem Versuch verwendet, da sich Gemische von Filtrat und TMV-haltigem Kochsalzextrakt als haltbarer erwiesen als solche mit TMV-haltigem Pflanzensaft. Letztere überzogen sich leicht mit einem dünnen Häutchen und gingen in Zersetzung über.

b) In den vorhergehenden Versuchen nicht geprüfte Mikroorganismen: Als bisher nicht geprüftes Filtrat zeigt dasjenige der Isolierung aus *Pichia* eine Inaktivierung des TMV in Kochsalzextrakt.

c) Vergleich zwischen der Hemmstoffeinwirkung auf das TMV in Preßsaft, in Blattscheiben und in Kochsalzextrakt: Die inaktivierende Wirksamkeit aller in diesem Versuch geprüften Hemmstoffe gegenüber dem TMV in Kochsalzextrakt soll verglichen werden mit derjenigen gegenüber dem TMV in Preßsaft bzw. Blattscheiben.

Da zu den Vergleichen nur Serien mit ungefähr der gleichen Kontaktzeit und den gleichen Verdünnungsverhältnissen herangezogen werden können, kommt für den Vergleich der Wirkung von Filtraten auf TMV-haltige Preßsäfte mit der Wirkung von Filtraten auf TMV-haltige Kochsalzextrakte nur die Serie B I (Tab. 3) in Frage. Das ist die Serie mit dem geringeren Filtratgehalt, die sofort nach dem Mischen ausgetestet wurde.

Es zeigt sich dabei, daß die Inaktivierungsprozente von TMV im Preßsaft bei den Filtraten aller Mikroorganismen und auch bei den unbeimpften Nährböden bedeutend höher liegen. Allerdings bildet das *Rhizoctonia solani*-Filtrat eine Ausnahme, welches das TMV im Preßsaft deutlich stimulierte (auf + 85 %), während es das TMV in Kochsalzextrakt inaktivierte (37,4 %). Diese Tatsache erklärt sich, wie schon erwähnt, aus der Verwendung verschiedener Herkünfte des Pilzes.

Für den Vergleich der Wirkung der Kulturflüssigkeiten auf TMV in Blattscheiben mit der Wirkung der Filtrate auf TMV in physiologischer Kochsalzlösung kommen der erste Test des Blattscheibenversuches (vierwöchiger Kontakt) und die Serie A II des Kontaktzeitversuches (stärkere Filtratkonzentration und vierwöchiger Kontakt) in Frage.

Es zeigt sich sowohl bei den unbeimpften Nährböden als auch bei den Filtraten bzw. Kulturflüssigkeiten der Mikroorganismen, die in beiden Versuchen getestet wurden, eine durchweg stärkere Inaktivierung des TMV in Blattscheiben mit Ausnahme des Filtrats der *Penicillium*- und *Aspergillus*-Spezies, bei denen das TMV im Kochsalzextrakt stärker inaktiviert wurde (91,1 % bzw. 63,4 % Inaktivierung) als das TMV in Blattscheiben (81,1 % bzw. 54,4 % Inaktivierung, allerdings durch *Penicillium luteum* bzw. *Aspergillus versicolor*).

Es scheint sich also in diesem Falle die bereits besprochene Regel von Kassanis und Kleczkowski zu bestätigen. Die in dem Kochsalzextrakt enthaltene Menge an TMV ist nämlich geringer als die im Preßsaft vorhandene, was eindeutig aus den verschiedenen Verdünnungsendpunkten im Pflanzentest hervorgeht. Der verwendete TMV-haltige Preßsaft konnte nämlich bei einer Verdünnung von 1 : 500 000 noch Infektionen hervorrufen, TMV-haltiger Kochsalzextrakt dagegen höchstens noch bei 1 : 100 000.

Nun ist bekanntlich bei kleiner werdender Virusmenge eine größer werdende Hemmstoffmenge zur Inaktivierung notwendig, so daß für die geringe TMV-Menge im Kochsalzextrakt die im Versuch zugesetzte Filtratmenge nicht ausreicht, um den gleichen Inaktivierungswert hervorzurufen, der mit der gleichen Filtratmenge bei dem stärker TMV-haltigen Preßsaft erzielt wird.

Beim Vergleich der Filtrate bzw. Kulturflüssigkeiten hinsichtlich ihrer Wirksamkeit einerseits gegenüber dem TMV des Kochsalzextraktes und andererseits gegenüber dem TMV in den Blattscheiben bestätigt sich die gleiche Regel.

Allerdings bestehen dabei zwei Erklärungsmöglichkeiten. Die höhere Inaktivierung des TMV in den Blattscheiben kann einmal bedingt sein durch einen höheren Virusgehalt als im TMV-haltigen Kochsalzextrakt, so daß eine relativ geringere Hemmstoffmenge zur Inaktivierung des TMV in den Blattscheiben notwendig ist.

Zum anderen, was wahrscheinlicher ist, dürften die höheren beim TMV in Blattscheiben erhaltenen Inaktivierungswerte durch die größere zur Verfügung stehende Hemmstoffmenge zu erklären sein. Diese ist, wie schon erwähnt, praktisch unbegrenzt, während zur Inaktivierung des TMV im Kochsalzextrakt eben nur die geringe Menge an Hemmstoffen zur Verfügung steht, die in den 3 ccm des zugesetzten Mikroorganismen-Filtrats enthalten ist.

d) Einfluß der Verdünnung des Filtrats auf seine inaktivierende Wirksamkeit: In der tabellarischen Übersicht des Kontaktzeitversuches fällt auf, daß viele, jedoch nicht alle Inaktivierungswerte der B-Serie (geringere Filtratkonzentration) höher liegen als die der A-Serie (stärkere Filtratkonzentration).

Mit der oben besprochenen Regel von KASSANIS und KLECZKOWSKI, daß mit kleiner werdender Virusmenge die zur Inaktivierung notwendige Hemmstoffmenge zunimmt, scheint das im Widerspruch zu stehen.

Eine Möglichkeit zur Erklärung der höheren Inaktivierungswerte in einigen Filtratgemischen der B-Serie besteht in folgendem:

SIGURGEIRSSON und STANLEY (1947) zeigten bekanntlich, daß in alterndem Preßsaft TMV-Moleküle mit einer Länge von 600 mμ auftauchen, das ist etwa die doppelte Länge der normalen TMV-Moleküle.

Nun könnte evtl. die größere Menge des in der Serie A zugesetzten Filtrats der Mikroorganismen ebenfalls eine Bildung von längeren TMV-Molekül-Aggregaten bewirken, womit die Gesamtzahl der infektiösen Teile in dem Gemisch abnehmen würde.

In der Serie B mit geringerem Filtratzusatz zur gleichen TMV-Menge könnte die Bildung der TMV-Aggregate nur sehr gering sein oder ganz unterbleiben, womit die Zahl der infektiösen Teile im Gemisch gleich bliebe, gegenüber der Serie A (mit stärkerem Filtratzusatz) aber absolut größer wäre. Mit der Verringerung der Zahl der infektiösen TMV-Teilchen muß aber nach der oben besprochenen Regel die zur Inaktivierung notwendige Filtratmenge zunehmen.

Es ist deshalb vorstellbar, daß in den Fällen, wo bei der B-Serie eine höhere Inaktivierung des TMV als in der A-Serie erreicht wird, die größere Filtratmenge der A-Serie gegenüber der geringen Menge an infektiösen Teilchen in Form der TMV-Aggregate nicht mehr ausreicht, um eine Inaktivierung in derselben Höhe zu bewirken, wie sie in der B-Serie von der geringeren Filtratmenge gegenüber der größeren Menge an infektiösen Teilchen in Form der TMV-Einzelmoleküle erreicht wird.

e) Der Einfluß der Kontaktzeit zwischen Filtrat und TMV-haltigem Kochsalzextrakt auf die Inaktivierung des TMV: JOHNSON und OGDEN (1929) stellten fest, daß die Inaktivierung TMV-haltiger Pflanzensäfte in feuchten, gut belüfteten Böden mit lockerer Struktur relativ schnell vor sich geht. Dabei wirken diese Böden nicht direkt zerstörend auf das TMV. Vielmehr wird durch die günstigen Bedingungen die Tätigkeit der Bodenmikroben gefördert, die ihrerseits das TMV zerstören. Die Inaktivierung des TMV nimmt dabei allmählich zu.

GUPTA und PRICE (1950) stellten Untersuchungen an über den Einfluß der, allerdings nur sehr kurz bemessenen, Kontaktzeit zwischen *Trichothecium roseum*-Filtrat und dem südlichen Bohnenmosaik-Virus auf die Inaktivierung

des Virus. Die Gemische von Filtrat und Virus wurden ausgetestet unmittelbar nach dem Mischen, nach einer Stunde Kontakt und nach zwei Stunden Kontakt. Es ergaben sich dabei keine Unterschiede der Inaktivierungswerte.

Went (1937) kam bei der Mischung von Chemikalien und dem TMV bei Zunahme der Kontaktzeit bis auf 24 Stunden zum gleichen Ergebnis.

Klinkowski (1954) verimpfte Gemische von TMV und *Penicillium*-Filtrat unmittelbar nach dem Mischen bzw. nach 18stündiger Kontaktzeit, wobei sich deutliche Inaktivierungsunterschiede ergaben.

Im vorliegenden Versuch soll der Einfluß längerer Kontaktzeit zwischen Kulturfiltraten von Mikroorganismen und TMV-haltigem Kochsalzextrakt auf die Inaktivierung des TMV untersucht werden. Zu den tabellarisch zusammengefaßten Ergebnissen ist festzustellen, daß die am Tage des Mischens von Filtrat und TMV-Kochsalzextrakt verimpften Serien A I (stärkere Filtratkonzentration) und B I (geringere Filtratkonzentration) mit zwei Ausnahmen, nämlich *Rhizoctonia solani* Stamm 2 und Isolierung aus *Pichia* in der Serie A I, die höchste Infektiosität des TMV zeigen, verglichen mit den Serien A II und A III bzw. B II und B III (zwei- bzw. vierwöchiger Kontakt). Dieses kommt einerseits dadurch zum Ausdruck, daß die Serien A I und B I geringere Inaktivierungswerte zeigen. Andererseits zeigt sich das in einer zum Teil beträchtlichen Stimulierung, die in den Serien A I und B I gleichzeitig auftritt bei:

Trichothecium roseum Stamm 2	mit + 70,4 bzw.	+ 47,8 %
Rhizopus sp.	mit + 90,6 bzw.	+ 161,1 %
Nährboden unbeimpft	mit + 65,3 bzw.	+ 15,5 %

Der letzte Wert von + 15,5 % liegt schon, wie alle sonstigen hier nicht aufgeführten Stimulierungen innerhalb der Abweichung von ± 20 % von der Kontrolle.

In der Serie A nimmt der Inaktivierungswert mit der Dauer der Kontaktzeit in der Folge I, II, III zu in fünf Fällen, nämlich bei den Filtraten von:

Trichothecium roseum Stamm 1
Sclerotinia fructigena
Bakterienstamm R_1 (III liegt nicht vor)
Nährboden unbeimpft
Aspergillus sp.

Bei weiteren fünf Filtraten erreicht die Testung II (vier Wochen Kontakt) den höchsten Inaktivierungswert:

Fusarium sp.
Trichothecium roseum Stamm 2

Rhizopus sp.

Penicillium sp.

Isolierung aus *Pichia*

Im Falle des *Rhizoctonia solani*-Stammes 2 wird der höchste Inaktivierungswert bei der Testung I erreicht, d. h. bei Verimpfung ohne längere Kontaktzeit.

In der Serie B sind die Verhältnisse bedeutend klarer. Stellt man in einer Gruppe alle Filtrate zusammen, deren Inaktivierungsprozente in der Folge I, II, III zunehmen und berücksichtigt außerdem noch diejenigen, bei denen die Inaktivierungswerte zwar nicht in allen drei Testungen zunehmen, aber sich in zwei aufeinander folgenden Tests auf ungefähr der gleichen Höhe halten, so gehören neun von elf Filtraten zu dieser Gruppe.

Nur bei den Filtraten von *Rhizopus* sp. und *Aspergillus* sp. zeigt die Testung II (zwei Wochen Kontaktzeit) die stärksten Inaktivierungswerte.

f) Schlußfolgerungen: Insgesamt kann zum Kontaktzeitversuch gesagt werden, daß sich bei Verlängerung der Kontaktzeit eine deutliche Zunahme der Inaktivierung des TMV zeigt in allen Tests, die mit Filtraten von Mikroorganismen durchgeführt wurden. Sei es nun, daß die Inaktivierung gleichmäßig ansteigt und im III. Test, d. h. nach vier Wochen Kontaktzeit, einen Höchstwert erreicht, oder sei es, daß eine Zunahme vom I. zum II. bzw. vom II. zum III. Test erfolgt; eine Zunahme der Inaktivierung mit wachsender Kontaktzeit erfolgt jedenfalls immer.

Die Untersuchungen bestätigen die sich im Versuch über die Aufbewahrung von TMV-haltigen Blattscheiben in Kulturflüssigkeiten bei einigen Mikroorganismen zeigende Tendenz, daß die Kontaktzeit von Einfluß auf die sich ergebende Inaktivierung des TMV ist. Die bisher in der Literatur vielfach wiedergegebene Meinung (GUPTA und PRICE 1950, WENT 1937), daß die Kontaktzeit auf die inaktivierende Wirkung einer Substanz keinen oder nur geringen Einfluß hat, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß sich die vergleichenden Tests über zu kurze Zeiträume erstreckten.

4. Der Einfluß der Pufferung auf die inaktivierende Wirksamkeit der Kulturfiltrate von Mikroorganismen (s. Tab. 1)

a) Methodik: Der Pufferungsversuch lief parallel mit dem Versuch I über die inaktivierende Wirksamkeit der Filtrate bei Mischung von Kulturfiltraten mit TMV-haltigem Preßsaft. Die Methodik war im wesentlichen die gleiche wie in diesem Versuch, nur daß an Stelle des Mischungsanteils Aqua dest. ein Sörensen-Phosphat-Puffergemisch mit etwa pH 7 trat (Näheres siehe Kopf der Tab. 1).

b) Besprechung der Einzelergebnisse: Gupta und Price (1950) setzten ihren Gemischen von Pilzkurlturfiltraten und TMV-haltigem Preßsaft stets Pufferlösung zu, um allgemein die toxische Wirkung der Filtrate gegenüber dem TMV zu erhalten, ohne irgendeine Inaktivierung zu erfassen, die auf eine pH-Wirkung zurückzuführen ist.

Meiner Meinung nach ist aber der pH-Wert jedes Filtrats ganz typisch und stellt eine Seite der inaktivierenden Wirksamkeit gegenüber dem Virus dar, während die rein toxischen Eigenschaften des Filtrats die andere Seite bilden.

Wie im Literaturüberblick der früheren Arbeit (Bartels 1955) bereits erwähnt, wird das TMV selbst nur wenig durch die pH-Werte der Lösungen beeinflußt zwischen pH 3 und pH 8.

Da in den Filtraten solche extremen Werte nicht erreicht werden, sind die Unterschiede, die sich bei der Abreibung der Mischungen von Filtrat und TMV zwischen solchen Mischungen ohne und solchen mit Pufferzusatz ergeben, nicht auf die direkte Wirkung des Puffers gegenüber dem TMV zurückzuführen, sondern sie sind im überwiegenden Teil durch den Einfluß des Puffers auf die Filtrate bedingt, deren Hemmwirkung hierdurch verändert wird.

Aus dem Versuch II (TMV-Preßsaft gepuffert: TMV-Preßsaft + Filtrat gepuffert) ergibt sich eindeutig, daß durch die Pufferung die inaktivierende Wirksamkeit der Mikroorganismenfiltrate wie auch der Filtrate der nicht beimpften Nährböden herabgesetzt wurde. Das offenbart sich in den durchweg niedrigeren Inaktivierungswerten oder sogar Stimulierungen dieser Serie im Vergleich mit der auf beiden Blattseiten ungepufferten Serie I.

Lediglich im Falle von *Cladosporium cucumerinum* ergibt sich eine höhere Inaktivierung und im Falle von *Cladosporium herbarum* eine niedrigere Stimulierung, was ja wirkungsmäßig einer höheren Inaktivierung gleichzusetzen ist.

Der Versuch III (TMV-Preßsaft ungepuffert: TMV-Preßsaft + Filtrat gepuffert) hat eigentlich nur orientierenden Wert, da die TMV-Preßsaftkontrolle nicht gepuffert war.

Der Versuch wurde angesetzt in der Hoffnung, daß sich extreme Unterschiede in der inaktivierenden Wirksamkeit der Filtrate ergeben würden, indem die Kontrolle, da sie nicht durch Puffer beeinflußt wurde, hohe Läsionszahlen aufweisen würde und die TMV + Filtratmischung mit dem Pufferzusatz die toxische Wirkung des Filtrats und dazu die Puffereinwirkung zeigen würde.

In 11 der 17 geprüften Fälle ergeben sich höhere Inaktivierungswerte bzw. tiefere Stimulierungswerte als in dem vorher besprochenen Versuch II mit der gepufferten TMV-Kontrolle.

Man dürfte das evtl. als Beweis dafür ansehen, daß das TMV in diesen Fällen wenig, aber doch etwas durch den zugesetzten Puffer inaktiviert wird.

Im Vergleich des Versuches III mit dem Versuch I (TMV ungepuffert: Filtrat + TMV ungepuffert) zeigt sich auch hier die Tendenz, daß Pufferzusatz die inaktivierende Wirksamkeit der Filtrate gegenüber dem TMV herabsetzt, in diesem Falle mit Ausnahme von *Alternaria tenuis*, wo sich eine stärkere Inaktivierung, und *Rhizoctonia solani* Stamm 1, wo sich eine schwächere Stimulierung zeigt.

5. Serologisches Verhalten des TMV nach Filtrateinfluß

a) Fragestellung: Wie aus der tabellarischen Übersicht der schon genannten früheren Arbeit (BARTELS 1955) über die inaktivierende Wirksamkeit von Chemikalien hervorgeht, wurde für einzelne Chemikalien festgestellt, daß sie im Pflanzentest völlig inaktivierend auf Viren wirken, ohne jedoch die serologische Reaktionsfähigkeit des Virus zu beeinflussen. Zum Beispiel trifft das zu für eine 5%ige Konzentration von H_2O_2 gegenüber dem TMV (BAWDEN 1950).

Wie ebenfalls in der früheren Arbeit erwähnt wurde, kann man auf Grund dieses Kriteriums Unterschiede machen zwischen der reversiblen bzw. irreversiblen Inaktivierung, die die serologische Reaktion des Virus nicht beeinflußt, und zwischen einer Destruktion, bei der mit der völligen Zerstörung des Virusmoleküls auch die serologische Reaktionsfähigkeit verlorengeht.

In der zugänglichen Literatur liegen über die Beeinflussung der serologischen Reaktionskraft des Virus durch Mikroorganismen-Filtrate keine Angaben vor. Es war deshalb die Aufgabe des vorliegenden Versuchs, zu prüfen, wie sich der Filtrateinfluß auf die serologische Reaktionsfähigkeit des TMV auswirkt und, letzten Endes, ob sich Hinweise dafür ergeben, daß die Filtrate eine Destruktion des TMV-Moleküls bewirken, die sich im Fehlen jeder serologischen Reaktionsfähigkeit offenbart.

b) Methodik: Die Gewinnung des TMV-Antiserums wurde bereits im methodischen Teil besprochen. Es wurde stets das Serum desselben Versuchstieres (Pollux II) verwendet. Von den Antiseren wurden Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung bis 1 : 5000 hergestellt. Zur Verwendung kamen die Filtrate der Mikroorganismen, welche im Kontaktzeitversuch im Pflanzentest geprüft waren. Sie wurden mit Hilfe eines Schottbakterienfilters filtriert, damit größere Reste des Nährbodens völlig aus dem Filtrat entfernt wurden.

Der TMV-haltige Kochsalzextrakt in normaler, volumenmäßig dem TMV-haltigen Pflanzensaft entsprechender Konzentration wurde vor Gebrauch im Serumtest 5 Min. bei etwa 1300 Umdrehungen/Min. zentrifugiert, um eine möglichst klare TMV-Lösung

Tabelle 4

Verschiebung des Serum-Verdünnungsendpunktes durch Pilz- und Bakterienkulturfiltrate (bakterienfiltriert)

Testung: je 1 Tropfen Kulturfiltrat + TMV + Serum

Kulturfiltrat von:	NS Cäsar konzentr.	NaCl 0,85 %	AS Pollux II 1 : 3	1 : 5	1 : 10	1 : 50	1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 5000
Fusarium sp.	– u	– –	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	– –	– –	– –
Trichothecium roseum Stamm 1	– u	– –	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0–1 0–1	– –	– –
Trichothecium roseum Stamm 2	– –	– –	4 4	4 4	4 4	4 4	1 1	0–1 0–1	– –	– –
Sclerotinia fructigena	u –	– u	4 4	4 4	4 4	4 4	2 2	0–1 0–1	– –	– –
Bakterienstamm R_1	u u	u –	4 4	4 4	4 4	4 4	1 1	– 1	– –	– –
Rhizopus sp.	– –	– –	4 4	4 4	4 4	4 4	2–3 2–3	– –	– –	– –
Penicillium sp.	– –	– –	4 4	4 4	4–5 4–5	4 4	3 3	– –	– –	– –
Aspergillus sp.	u –	– –	4 4	4 4	4 4	4 4	3–4 3–4	2 2	– –	– –
Rhizoctonia solani Stamm 2	– –	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	2 2	1 1	– –	– –
0,85%ige NaCl-Lösung (Kontrolle)	– u	– –	4 4	4 4	4 4	3 3	3 3	3 3	– –	– –

Abkürzungen: 4 = starke Agglutination
3 = deutliche Agglutination
2 = schwache, nicht mehr eindeutige Agglutination
1 = Spuren einer evtl. Agglutination
— = keine Agglutination
u = unspezifische Flockung
AS = Antiserum
NS = Normalserum

zu erhalten. TMV-Kochsalzextrakt kam in den Serumtests zur Verwendung, da hierdurch der Zusatz eines besonderen Elektrolyts erspart wurde, außerdem noch aus Gründen, die später im Kapitel über die inaktivierende Wirksamkeit des Extrakts grüner Blätter und vergilbenden Laubs näher angegeben werden.

Sowohl die Filtrierung der Mikroorganismen-Filtrate als auch die Zentrifugierung des TMV-Kochsalzextrakts erleichterte die einwandfreie Ansprache von Agglutinationen wesentlich.

Zum Test wurden auf Objektträgern zweifach zusammengegeben:

je 1 Tropfen Mikroorganismen-Filtrat,
je 1 Tropfen TMV-haltiger Kochsalzextrakt,
je 1 Tropfen Serumverdünnung.

Anschließend wurde mit Glasstäbchen umgerührt, bei 23 °C 20 Min. bebrütet und bei Auflicht mikroskopisch untersucht, in welcher Stärke eine Agglutination erfolgte und bis zu welcher Antiserumverdünnung sie festzustellen war.

Die Ergebnisse wurden verglichen mit einem Test, bei dem an Stelle des Filtrats physiologische Kochsalzlösung verwendet wurde.

Die angegebenen Verdünnungen beziehen sich immer auf das zur Verwendung kommende Antiserum! Streng genommen werden diese Verdünnungen nochmals in dem Test auf das Doppelte verdünnt durch Zugabe des Filtrats bzw. der physiologischen Kochsalzlösung, die an Stelle des Filtrates trat.

Um zu erkennen, ob eine agglutinationsähnliche Flockung auch bei Zusammengabe von Mikroorganismen-Filtrat und TMV-Kochsalzextrakt erfolgt, wurde auch in jedem Versuch einmal das Antiserum durch Kochsalzextrakt ersetzt. Schließlich wurde in dem Versuch auch einmal das Antiserum durch Normalserum nicht geimpfter Kaninchen ersetzt, um unspezifische Reaktionen zu erkennen, die die Bestimmung des Antiserum-Verdünnungsendpunktes bei den verschiedenen Filtrat+TMV+Antiserum-Kombinationen erschweren.

c) Besprechung der Einzelergebnisse (s. Tabelle 4):

Es ergab sich grundsätzlich, wie auch auf Grund der im Pflanzentest erhaltenen Inaktivierungsergebnisse zu erwarten, daß keine stärkere Schädigung des TMV-Moleküls durch die verwendeten Mikroorganismen-Filtrate hervorgerufen wurde. Denn alle Mischungen von TMV + Filtrat + Antiserum-Verdünnungen zeigten bei stärkerer Antiserum-Konzentration eine deutliche Agglutination. Daß die Reaktion zwischen TMV als Antigen und dem Antikörper des Antiserums durch die Filtrate aber beeinflußt wird, ergibt sich aus folgendem:

Die Kontrolle, bei der an Stelle von Filtrat physiologische Kochsalzlösung verwendet wurde, zeigte noch eine deutliche Agglutination bei einer Antiserumverdünnung von 1 : 500, bei welcher keine der Serien mit Filtratzusatz noch deutlich reagierte.

Sechs der geprüften Filtrat + TMV-Mischungen reagierten noch deutlich bei einer Antiserumverdünnung von 1 : 100.

Drei dagegen, nämlich die Mischungen des TMV mit

Trichothecium roseum Stamm 2,
Bakterienstamm R_1,
Rhizoctonia solani Stamm 2

zeigten nur noch bei der Antiserumverdünnung 1 : 50 eine eindeutige Agglutination.

Ein Blick auf die Testungen, in denen statt des Antiserums Normalserum bzw. physiologische Kochsalzlösung zu dem Filtrat + TMV-Gemisch zugesetzt wurde, zeigt in einigen Fällen das Auftreten einer unspezifischen Flockung in diesen Tests.

Bei den gleichen Mikroorganismen treten dann auch meistens bei den sehr starken Antiserumverdünnungen von 1 : 500 ab Spuren einer Flockung auf (Stufe 1 und 2), die zwar agglutinationsähnlich, aber nicht einwandfrei als solche anzusprechen waren.

Für die Auswertung spielt das aber keine große Rolle, da es sich eben nur um sehr schwache Flockungen handelt.

Es ist also in allen Versuchen deutlich festzustellen, daß sich durch den Einfluß der Kulturfiltrate der Mikroorganismen wie auch des unbeimpften Nährbodens der Verdünnungsendpunkt des Serums in den Tests deutlich zur stärkeren Konzentration verschiebt.

Die Deutung der Ergebnisse kann in zwei Richtungen erfolgen. Einmal kann das Filtrat das zugesetzte TMV beeinflussen, indem das TMV teilweise inaktiviert wird oder zumindest bestimmte Gruppen des TMV-Moleküls blockiert werden, so daß die Menge des als Antigen wirkenden TMV herabgesetzt wird bzw. das TMV-Molekül schlechter mit dem im Antiserum enthaltenen Antikörper reagieren kann.

Zum anderen kann das Antiserum selbst durch die Filtrate beeinflußt werden, indem Antikörper geschädigt oder teilweise blockiert werden. Diese Deutung erinnert an die Ausdeutung von Pflanzentests, bei denen ja auch die Möglichkeit besteht, daß Hemmstoffe nicht das TMV direkt inaktivieren, sondern die Empfänglichkeit der Wirtspflanze verändern.

Welche der beiden Möglichkeiten zutrifft, kann nicht eindeutig entschieden werden, zumal in der Serologie keine völlige Klarheit darüber herrscht, ob überhaupt aus der Stärke einer Agglutination auf die vorhandene Virusmenge geschlossen werden kann, was Bercks (1950) und Stapp und Bartels (1952) im Zusammenhang mit dem serologischen Nachweis von Kartoffelviren betonen. Für den vorliegenden Versuch kann lediglich festgestellt werden, daß sich die im Pflanzentest ergebende Inaktivierung auch im serologischen Test insofern widerspiegelt, als alle sich im Pflanzentest als

inaktivierend erweisenden Mikroorganismenfiltrate im serologischen Test den Antiserumverdünnungsendpunkt zur stärkeren Serumkonzentration hin verschieben.

Bestimmte Beziehungen zum jeweiligen Inaktivierungsgrad konnten jedoch nicht festgestellt werden.

Die serologischen Ergebnisse können somit nur im Zusammenhang mit den Ergebnissen des Pflanzentests betrachtet werden, der serologische Test ist also nur als eine zusätzliche Methode neben dem Pflanzentest zu werten.

Eine Aussage über die inaktivierende Wirksamkeit bestimmter Substanzen allein auf Grund eines Serumverdünnungstests zu machen, wäre sehr leichtfertig und ist nach den bisherigen Ergebnissen noch nicht möglich.

(Fortsetzung und Schluß im Band 25, S. 113—152, dieser Zeitschrift.)

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

Über den Wirtswechsel der *Puccinia iridis* (DC.) Wallr.

Von

E. Gäumann

Die Bezeichnung *Puccinia iridis* geht auf die *Uredo iridis* zurück, die de Candolle (1808, S. 224) auf *Iris pumila* L. beschrieben hat; sie wurde von Wallroth (in litt. bei Rabenhorst, 1844, S. 23) mit Typuswirt *Iris pallida* Lam. in die Gattung *Puccinia* gestellt.

Tranzschel (1923) vermochte mit Teleutosporen von *Iris sibirica* L. aus dem Amurdistrikt (Ostsibirien) *Valeriana officinalis* L. zu infizieren; anderseits erhielten Joerstad und Roll-Hansen (1949) mit Teleutosporen von derselben *Iris sibirica* aus Norwegen Spermogonien und Aecidien auf *Urtica dioica* L., dagegen keine Infektion auf *Valeriana excelsa* Poir. = *Valeriana officinalis* L. var. *latifolia* Vahl; also müssen auf *Iris sibirica* zwei geographisch verschiedene Rassen oder Arten der *Puccinia iridis* bestehen.

Der Verfasser fand seinerseits die *Puccinia iridis* im Herbst 1940 im südlichen Tessin (Schweiz) auf dem Monte S. Giorgio ob Meride, auf dem Grat des Höhenzuges östlich von La Cassina, auf *Iris graminea* L. Infektionsversuche mit *Valeriana officinalis* blieben erfolglos. In den Jahren 1949 und 1950 wurden sie durch unsere Mitarbeiterin Frau Sophie Weber — im Anschluß an die überraschenden Ergebnisse von Joerstad und Roll-Hansen — mit *Parietaria officinalis* L., *Urtica dioica* L., *Urtica urens* L. und *Valeriana officinalis* L. wiederholt. Sie lieferten reichliche Spermogonien und Aecidien auf *Urtica dioica* und *Urtica urens*, dagegen keine Infektionen auf *Parietaria officinalis* und *Valeriana officinalis*. Rückinfektionen von *Urtica* auf *Iris graminea* erzeugten einen reichlichen Befall.

Der Wirtswechsel des schweizerischen Rostes auf *Iris graminea* deckt sich also mit demjenigen des norwegischen Rostes auf *Iris sibirica*.

Da die Spermogonien und Aecidien auf den *Urtica*-Arten nirgends in extenso beschrieben sind, lassen wir eine kurze Diagnose folgen:

Spermogonien besonders auf der Blattoberseite, zu kleinen Gruppen vereinigt, rundlich, eingesenkt, unter der Epidermis gebildet, meist 80 bis 140 μ im Durchmesser, mit hervorragenden Mündungsperiphysen.

Aecidien in kleinen Gruppen blattunterseits auf nicht verdickten Blattgeweben. Pseudoperidie becherförmig, weiß, am Rande ausgebogen und zerschlitzt. Pseudoperidienzellen in verhältnismäßig lockeren, jedoch deutlichen Längsreihen, oft nahezu quadratisch, seltener recht- oder sechseckig, 16 bis 25 μ lang, 16 bis 21 μ breit; Außenwand 1 bis 2 μ dick, mit feiner Stäbchenstruktur; Innenwand 2 bis 3 μ dick, mit gröberer, sehr regelmäßiger Stäbchenstruktur. Aecidiosporen in deutlichen Ketten, rundlich, länglich oder polyedrisch, 11 bis 24, meist 15 bis 20 μ lang, 10 bis 18, meist 12 bis 16 μ breit. Wand farblos, kaum 1 μ dick, sehr fein und dicht warzig.

Von den Aecidien des Formenkreises der *Puccinia urticae — caricis* Kleb., die ja ebenfalls auf *Urtica dioica* L. und *Urtica urens* L. zur Ausbildung gelangen, unterscheiden sich die Aecidien der *Puccinia iridis* vor allem durch die unterschiedliche Verdickung der Pseudoperidienwände. Bei der *Puccinia iridis* sind nämlich die Wände der Pseudoperidienzellen verhältnismäßig wenig verdickt, doch immerhin auf der Innenseite der Pseudoperidie etwas dicker als auf der Außenseite, nämlich 2 bis 3 gegenüber 1 bis 2 μ. Bei den Aecidien der *Puccinia urticae-caricis* sind dagegen die Wände der Pseudoperidienzellen stark verdickt, und überdies ist die Außenwand stärker verdickt als die Innenwand, nämlich die Außenwand bis auf 7 μ und die Innenwand auf 3 bis 5 μ.

Ferner scheint es, daß die Reaktion der Wirtsgewebe in pathologisch-anatomischer Beziehung bei den Aecidien der *Puccinia iridis* etwas anders verläuft als bei den Aecidien der *Carex-Urtica*-Puccinien. Die Aecidien der *Carex*-Puccinien erscheinen nämlich auf den *Urtica*-Blättern oft auf verdickten und verkrümmten, orange bis rot verfärbten Partien, während wir bei den Aecidien der *Puccinia iridis* keine derartigen hyperplastischen Reaktionen beobachten konnten.

Wie verhält sich nun der schweizerische Rost von *Iris graminea* zum norwegischen Rost auf *Iris sibirica*?

JOERSTAD und ROLL-HANSEN (1949) haben festgestellt, daß innerhalb der *Puccinia iridis* in extremis zwei durch die Dimensionen ihrer Uredosporen morphologisch unterscheidbare Typen bestehen, nämlich ein größersporiger Typus, bei dem die Uredosporen im groben Durchschnitt etwa 26 bis 30 μ lang und 21 bis 25 μ breit sind, und ein kleinersporiger Typus, dessen Uredosporen im groben Durchschnitt etwa 24 μ lang und 20 bis 22 μ breit sind.

Der größersporige Typus entspricht der forma typica; denn er findet sich auf den eingangs genannten Typuswirten *Iris pallida* und *Iris*

pumila, ferner u. a. auf *Iris Brandzae* Prod., *Iris flavescens* Reb., *Iris flavissima* Patt., *Iris furcata* Bieb., *Iris germanica* L., *Iris halophila* Pall., *Iris Hartwegii* Baker, *Iris kashmiriana* Baker, *Iris longipetala* Herb., *Iris missouriensis* Nutt., *Iris orientalis* Thunb., *Iris spuria* L., *Iris stenogyne* Del., *Iris tectorum* Maxim., *Iris unguicularis* Poir., *Iris versicolor* L. und *Iris Xiphium* L.

Sein Wirtswechsel ist noch unbekannt. MAINS (1934, 1938) erhielt in den Vereinigten Staaten mit Teleutosporen von *Iris Clarkei* Baker bzw. *Iris fulva* Ker. und von *Iris versicolor* L. keine Infektion auf *Valeriana officinalis* L., und auch unsere eigenen kursorischen Infektionsversuche, die freilich mit verhältnismäßig wenig Teleutosporenmaterial von kultivierten *Iris*-Arten aus Italien (mitgeteilt von Herrn Kollegen C. SIBILIA in Rom) und aus der Schweiz auf *Urtica dioica* L., *Urtica urens* L. und *Valeriana officinalis* L. durchgeführt wurden, blieben erfolglos. Auch die Beobachtungen in der Nachbarschaft der infizierten Gärten führten zu keinen Fingerzeigen; denn der Rost überwintert in unserem Klima mit den Uredomyzelien und muß deshalb seinen Wirt nicht obligat wechseln.

Der kleinersporige Typus wurde von JOERSTAD und ROLL-HANSEN u. a. auf *Iris graminea* aus Galizien und Belgien und auf *Iris sibirica* aus Norwegen beobachtet. Die Uredosporen, die wir unsererseits durch Rückinfektion von den *Urtica*-Aecidien her auf *Iris graminea* gewonnen hatten, gehörten ebenfalls dem kleinersporigen Typus an.

In morphologischer Hinsicht sind demnach die auf *Urtica* hinüberwechselnden Roste von *Iris sibirica* aus Norwegen und von *Iris graminea* aus der Schweiz miteinander identisch.

Biologisch gehören sie dagegen verschiedenen formae speciales an; denn JOERSTAD und ROLL-HANSEN vermochten mit ihrem norwegischen Material von *Iris sibirica Iris graminea* nicht zu infizieren, und ebensowenig *Iris germanica* L., *Iris halophila* Pall., *Iris orientalis* Thunb., *Iris pseudacorus* L., *Iris spuria* L. und *Iris versicolor* L.

In ähnlicher Weise ist unser schweizerischer Rost auf *Iris graminea* streng auf *Iris graminea* spezialisiert und vermag *Iris Delavayi* Mich., *Iris ensata* Thunb., *Iris florentina* L., *Iris foetidissima* L., *Iris germanica* L., *Iris laevigata* Fisch., *Iris manshurica* Meissn., *Iris ochroleuca* L., *Iris pseudacorus* L., *Iris pumila* L., *Iris sibirica* L., *Iris squalens* L., *Iris tingitana* Boiss. et Reut., *Iris variegata* L. und *Iris virescens* Red. nicht zu befallen.

Es wäre verfrüht, schon heute aus diesen Ergebnissen systematische bzw. nomenklatorische Schlüsse zu ziehen. Wahrscheinlich wird man später, wenn der Wirtswechsel der größersporigen Form bekannt ist, die Bezeichnung *Puccinia iridis* auf diese Form einengen und die kleinersporige Form wegen ihrer stark abweichenden Uredosporen und wegen ihres abweichenden Wirtswechsels als besondere Kleinart abtrennen.

Literaturverzeichnis

CANDOLLE, A. P. DE, 1808: Uredo in LAMARCK, Encyclopédie méthodique. Botanique **8**, 207—251.

JOERSTAD, I. and ROLL-HANSEN, F., 1949: Urtica dioica and aecidial host of *Puccinia iridis*. Nytt Mag. f. naturvid. **87**, 61—75.

MAINS, E. B., 1934: Host specialization in the rust of Iris, *Puccinia iridis*. Amer. J. Bot. **21**, 23—33.

— —, 1938: Additional studies concerning the rust of Iris, *Puccinia iridis*. Phytopath. **28**, 67—71.

RABENHORST, L., 1844: Deutschlands Kryptogamen-Flora. 1. Band, Pilze. Leipzig, 614 S.

TRANZSCHEL, W., 1923: Experimenta et observationes ad biologiam Uredinalium 1914—1919. Notulae syst. ex Instituto crypt. horti bot. Petropolitani **2**, 83—86.

Kurze Mitteilungen

Aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für gärtnerische Virusforschung, Berlin-Dahlem

Versuche zur Übertragung des Blattrollvirus der Kartoffel in den Überträger (*Myzodes persicae* Sulz.) mit Injektionsverfahren

Von

K. Heinze

Mit 1 Abbildung

Es ist bisher nicht mit Sicherheit gelungen, Blattrollvirus außerhalb der Pflanze zu erhalten, um seine physikalisch-chemischen Eigenschaften feststellen zu können (1). Auch bei den Untersuchungen des Preßsaftes blattrollviruskranker Pflanzen durch Sprau (6), dessen elektronenmikroskopische Aufnahmen lange, stäbchenförmige Gebilde zeigen, ist die Gewißheit nicht gegeben, daß es sich bei den Abbildungen tatsächlich um Blattrollvirus handelt; denn der Nachweis der Infektiosität des Preßsaftes durch künstliche Übertragung der Krankheit mit dem Saft von Pflanze zu Pflanze hat sich bisher als unmöglich erwiesen. Er gelingt nur auf dem Wege über die Blattlaus. Untersucht man daher das Blut von Läusen, die auf blattrollkranken Pflanzen gesogen haben und die imstande sind, die Krankheit auf gesunde Pflanzen zu übertragen, so ist mit Sicherheit anzunehmen, daß in dem Blut dieser Läuse das Blattrollvirus vorhanden ist. Der Nachweis, daß der aus blattrollkranken Pflanzen gewonnene Preßsaft das Blattrollvirus enthält, ist auch dann erbracht, wenn die virusfreie Laus, der der Preßsaft injiziert wird, imstande ist, die Krankheit weiter zu geben.

Es wurden daher folgende Versuche unternommen:

1. Eine feine Insektennadel wurde in das Blut infizierter Blattläuse getaucht und sofort in eine virusfreie Blattlaus gestoßen.

2. Preßsaft aus viruskranken Pflanzen wurde in virusfreie Blattläuse injiziert, diese Blattläuse auf gesunde Pflanzen gesetzt und deren Entwicklung beobachtet.

3. Blut virusinfizierter Läuse wurde in virusfreie Blattläuse injiziert und versucht, durch Aufsetzen dieser Läuse auf gesunde Pflanzen Blattrollsymptome zu erhalten.

Nadelstichinfektionen (7)

Das Anstechen der Blattläuse mit einer feinen Insektennadel (Stärke 00) wirkt in der Regel nicht tödlich. Wenn der Stich so geführt wird, daß keine lebenswichtigen Organe verletzt werden, wird die Verwundung meist von über 50 % der Tiere überlebt. Zur Übertragung des Blattrollvirus wurde die Nadelspitze zunächst in Blut infizierter Blattläuse getaucht, das aus einer Wunde (Beinstumpf) hervorquoll. Diese blutverschmierte Nadel wurde sofort in eine virusfreie Blattlaus gestoßen. Die angestochenen Blattläuse wurden auf die Testpflanzen (acht *Physalis floridana*) aufgesetzt. Sie blieben vier Tage auf der ersten Testpflanzenserie. Die Überlebenden wurden auf eine neue Testpflanzenserie übergesetzt und nach vier Tagen auf eine dritte Serie weitergesetzt. Dieses Umsetzen konnte in dreitägigen Abständen noch zweimal wiederholt werden, bevor alle Blattläuse eingegangen waren. Die Beobachtung der Testpflanzen ergab, daß vier der acht Blattlauskolonien infektiöse Blattläuse enthielten, die durch die Nadelstiche zu Virusträgern geworden waren. Insgesamt erkrankten nach dem Aufsetzen der nadelstichinfizierten Pfirsichblattläuse sieben von 21 Pflanzen.

In einem zweiten Versuch wurden 70 Pfirsichblattläuse mit einer in virushaltiges Blut getauchten Nadel angestochen und zu je fünf auf neun *Physalis floridana*- und fünf *Datura stramonium*- (*tatula*-) Pflanzen verteilt. Einzelne der angestochenen Aphiden lebten über 40 Tage und produzierten dabei reichlich Nachkommen. Die Larven wurden abgetötet, während die Imagines in zwei- bis viertägigen Abständen auf neue Testpflanzen übergesetzt wurden. Sieben der 14 Blattlauskolonien enthielten infektiöse Blattläuse. In mehreren Fällen wurden von einer Kolonie Pflanzen aufeinanderfolgender Testpflanzenserien angesteckt. Die Zahl der insgesamt erkrankten Pflanzen betrug 17 (von 55).

Injektionsversuche

Virushaltige Lösungen in festgelegten Mengen in Blattläuse zu injizieren, stößt aus zweierlei Gründen auf Schwierigkeiten. Erstens macht die Kleinheit der Blattläuse sie sehr anfällig gegen Verletzungen durch die im Verhältnis zur Laus große Injektionsnadel, so daß erhebliche Verluste durch Wundverletzungen eintreten (4). Es wurde versucht, diese Schwierigkeiten durch haarartig dünn ausgezogene Pipetten aus Pyrex- oder Jenaer Glas zu umgehen, deren Enden mit einer Rasierklinge abgeschrägt waren, so daß diese leicht durch die Kutikula gestoßen werden konnten (2, 5). Die Auswahl möglichst großer Blattläuse — sie wachsen auf Tabakpflanzen zu besonders stattlicher Größe heran — verringerte die Zahl der durch Verletzung ein-

gehenden Läuse. Die zweite Schwierigkeit, festgesetzte Mengen virushaltigen Saftes in Blattläuse zu bringen, entsteht dadurch, daß der Innendruck, der die pralle Form der Blattläuse bewirkt, bei Anstich mit einer Hohlnadel sofort Körperflüssigkeit in diese eintreten läßt. Abgemessene kleine Mengen lassen sich aus diesem Grunde kaum in den Blattlauskörper hineinpressen.

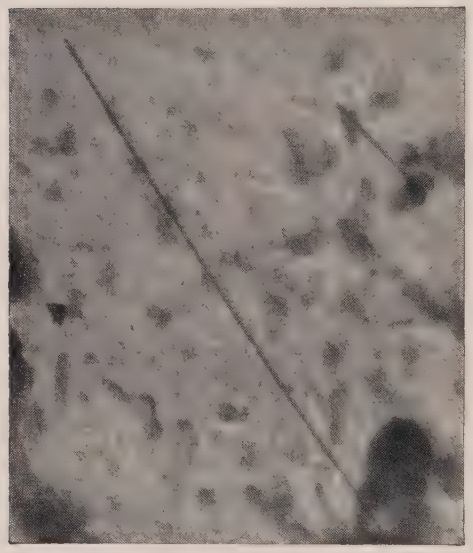
Für die erste Injektionsserie wurde ein Preßsaftgemisch blattrollinfizierter Pflanzen von *Datura stramonium, Physalis floridana* und *Solanum tuberosum* benutzt, das zehn Minuten mit 3500 Umdrehungen/min. zentrifugiert worden war und das während des Herstellungsprozesses gekühlt wurde. Die mit dem Gemisch injizierten Pfirsichblattläuse wurden zu je drei bis fünf auf 15 junge *Physalis floridana*-Testpflanzen verteilt. Sie blieben etwa 52 Stunden auf den Pflanzen. Fünf von diesen 15 Testpflanzen zeigten später Symptome des Blattrollvirus. Da nur eine von den aufgesetzten Blattläusen nach 52 Stunden noch am Leben war und auf eine neue Testpflanze weitergesetzt werden konnte, war anzunehmen, daß der eingespritzte Preßsaft toxisch wirkte. Es wurde deshalb für die weiteren Injektionsversuche das Blut infektiöser Blattläuse benutzt. 30 bis 40 % der Blattläuse überstanden gewöhnlich die Injektion.

Für die zweite Versuchsserie wurde das Blut aus Wunden, die den Tieren beigebracht wurden, in etwa zwei Tropfen eisgekühlten Wassers gesammelt. Dieses verdünnte Blut wurde in 45 bis 50 virusfreie *Myzodes persicae* (Sulz.) injiziert. Die injizierten Blattläuse wurden auf neun sehr junge *Datura*-Pflanzen verteilt. Nach zwei Tagen Saugzeit wurden die Überlebenden auf eine neue Testpflanzenserie weitergesetzt. Das wiederholte sich, bis die letzte Blattlaus eingegangen war. Einzelne Blattläuse lebten noch etwa vier Wochen nach der Injektion, und es konnte mit ihnen bis zu neunmal auf neue Testpflanzen übergewechselt werden. Wie die Tabelle veranschaulicht, enthielten die Kolonien 1, 2, 4, 5, 6, 8, die ursprünglich aus drei bis fünf *Myzodes persicae* bestanden (Larven wurden bei jeder Kontrolle abgetötet), infektiöse Blattläuse. Die Überlebenden der Kolonie Nr. 8 infizierten insgesamt sechs Pflanzen. Weitere Einzelheiten, wie Lebensdauer der Kolonien und Zahl der infizierten Pflanzen, sind der Tabelle zu entnehmen.

Für die dritte Versuchsserie wurde virushaltiges Blut, das mit einer feinen Hohlnadel von Beinstümpfen abgesammelt worden war, aus denen es nach der Amputation hervorquoll, direkt in virusfreie Aphiden übertragen. Insgesamt wurden 31 *Myzodes persicae* injiziert und auf sechs Testpflanzen (*Physalis floridana*) verteilt. Nach zwei Tagen lebten noch 14 Blattläuse, diese wurden einzeln auf neue Testpflanzen übergesetzt (zweite Testpflanzenserie), die Überlebenden wieder einzeln auf weitere Testpflanzen (dritte Serie) und so fort, bis die letzte Blattlaus eingegangen war. Sieben der 31 Blattläuse wurden infektiös. Drei Pflanzen wurden in der Serie angesteckt, die mit den frisch injizierten Blattläusen besetzt worden war; fünf Pflanzen erkrankten in der folgenden Serie (nach dem Weitersetzen).

Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Blutes

Von den für die Infektionsversuche genommenen Blutproben wurden geringe Mengen abgezweigt und nach Chrombedampfung elektronenmikroskopisch mit einem Philips-Instrument untersucht. Im Blut der infizierten Blattläuse konnten sehr lange Fäden festgestellt werden, deren Länge bis zu 5 μ betrug (Abb.). Einzelne Teilchen wurden mit 1,66 μ, andere mit 3,15 μ ausgemessen. Es wurden auch Bruchstücke gefunden, deren Längen zwischen 0,337 und 0,716 μ schwankten, ein Teilchen maß 1,404 μ. Sehr oft lagen die Fäden paarig nebeneinander. Die Dicke der Teilchen konnte nicht mit genügender Genauigkeit bestimmt werden. Sie dürfte sich um 0,0175 μ bewegen. Auch im Preßsaft blattrollinfizierter *Physalis floridana*-Pflanzen, der vor der elektronenmikroskopischen Untersuchung ein Stunde lang mit 25 000 Umdrehungen/min. zentrifugiert wurde, konnten Stäbchen gefunden werden, deren Länge bei 0,62 und 0,75 μ und bei 1,40 und 1,67 μ lag. Ähnliche Stäbchen (1,3 bis 1,4 μ lang) wurden in einem Preßsaftgemisch blattrollinfizierter Pflanzen von *Physalis floridana, Datura stramonium* und *Solanum tuberosum* nachgewiesen.



Stäbchenartige Gebilde im Blut blattrollinfizierter *Myzodes persicae* (SULZ.), etwa 15 000fach

Um zu entscheiden, ob die Teilchen mit Sicherheit zum Blattrollvirus gehören, war die Zahl der Proben und der Messungen nicht ausreichend. Wenn auch lange Fäden im Blut virusfreier Blattläuse und im Preßsaft gesunder Vergleichspflanzen fehlten, so waren doch gelegentlich kurze — allerdings wesentlich plumpere — Bruchstücke im elektronenmikroskopischen Bild vorhanden, deren Natur unklar blieb und die eventuell in Zusammenhang mit dem S-Virus der Kartoffel stehen könnten (8). Augenfällig ist aber die Ähnlichkeit der langen Teilchen mit den bei SPRAU (6) in seiner Abbildung 2 für das Blattrollvirus dargestellten. Hinzu kommt, daß ein ebenfalls Chlorose verursachendes Virus, das die Vergilbungskrankheit der Rübe hervorruft, nach BRANDES und ZIMMER (3) auch lange, dünne Fäden mit Teilchengrößen besitzt, die in der Hauptsache bei 1,250 μ (und 0,625μ bzw. 2,500 μ) liegen. Diese Fäden sind gekrümmt und deutlich dünner als die in der Abbildung dargestellten. Eine fädige Struktur für die Teilchen des Blattrollvirus zu vermuten, scheint nach den bisher vorliegenden Daten nicht ab-

wegig zu sein. Es wird die Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, neues Beweismaterial hierfür zusammenzutragen.

Tabelle

Übertragung des Blattrollvirus der Kartoffel durch Injektion virushaltigen Blutes in virusfreie *Myzodes persicae* (Sulz.)

Versuchsreihen	Stärke der Blattlauskolonien ( ) auf den Testpflanzen und Gesundheitszustand der Testpflanzen								
	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8	Nr. 9
1. Testpfl.-Serie	(3*) inf.	(3) inf.	(3) o. S.	(3) o. S.	(2) inf.	(4) o. S.	(3) o. S.	(5) o. S.	(3) (?)
2. Testpfl.-Serie	(2) inf.	(2) o. S.	(3) o. S.	(2) inf.	(2) o. S.	(3) o. S.	(3) o. S.	(5) o. S.	(2) o. S.
3. Testpfl.-Serie	(1) inf.	(1) inf.	(1) o. S.	(2) inf.	(1) inf.	(3) inf.	(3) o. S.	(3) inf.	(1) o. S.
4. Testpfl.-Serie		(1) o. S.	(1) o. S.	(2) inf.	(1) inf.	(2) inf.	(2) o. S.	(2) inf.	(1) o. S.
5. Testpfl.-Serie		(1) inf.	(1) o. S.	(2) inf.				(2) inf.	
6. Testpfl.-Serie		(1) inf.		(2) inf.				(2) o. S.	
7. Testpfl.-Serie		(1) inf.		(2) inf.				(2) inf.	
8. Testpfl.-Serie		(1) o. S.		(2) inf.				(1) o. S.	
9. Testpfl.-Serie		(1) o. S.						(1) inf.	
10. Testpfl.-Serie								(1) inf.	
	1. Kolonie	2. Kolonie	3. Kolonie	4. Kolonie	5. Kolonie	6. Kolonie	7. Kolonie	8. Kolonie	9. Kolonie

* Anzahl (*) der überlebenden *Myzodes persicae* bei jeder Übertragung.
o. S. = ohne Symptome; inf. = infiziert.

Die Untersuchungen wurden mit einem Fulbrightstipendium am Rockefeller Institute for Medical Research, New York, durchgeführt. Den Kollegen Dr. Maramorosch, Dr. Porter und Dr. Palade bin ich für die Förderung der Untersuchungen zu besonderem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis

1. Bawden, F. C., 1950: Plant viruses and virus diseases. 3rd. Edit. Waltham, Mass.
2. Black, L. M., 1954: Arthropode transmission of plant viruses. Parasitology 3, 72—104.

3. BRANDES, J. und ZIMMER, K., 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die viröse Vergilbungskrankheit der Rübe (beet yellows). Phytopath. Z. **24**, 211—215.

4. HEINZE, K., 1955: Survival of aphids after injection. J. econ. Entom. **48**, im Druck.

5. MARAMOROSCH, K., 1954: Biological transmission of plant viruses by animal vectors. Transact. New York Acad. Sci. Ser. II, **16**, 189—195.

6. SPRAU, F., 1952: Elektronenoptische Darstellung des Blattrollvirus der Kartoffel mit einem kurzen Überblick über die Elektronenmikroskopie in der Virusforschung. Z. Pflanzenbau u. Pflanzensch. (München) **3**, 213—221.

7. STOREY, H. H., 1933: Investigations of the mechanism of the transmission of plant viruses by insect vectors. J. Proc. roy. Soc. (London) Ser. B, **113**, 463—485.

8. WETTER, C. und BRANDES, J., 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Gestalt und Größe des Kartoffel-S-Virus. Naturwissensch. **42**, 100—101.

Aus dem Institut für Heilpflanzenforschung, Budapest

Vergleichende Untersuchungen über die Keimung der Mutterkorn-Konidien saprophytischen und parasitischen Ursprungs

Experimente mit Antiwirkstoffen

Von

A. St. Garay und S. Kökényesy

Es ist bekannt, daß parasitische Konidien (Honigtau) des Mutterkorns infektionsfähiger sind als die auf saprophytischem Wege entstandenen (1). Autoren haben Konidienkeimungen in vitro beiderlei Ursprungs in Gegenwart von verschiedenen Antiwirkstoffen verglichen.

Der Honigtau wurde von Petkuser Roggen, die saprophytischen Konidien von auf Malz-Agar-Nährboden entwickelten Mutterkornkulturen gesammelt. Die Keimung wurde in hängenden Tropfen auf folgender Nährlösung bewirkt: KH_2PO_4 1,0 g, $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$ 0,6 g, $CaCl_2$ 0,5 g, Asparagin 2,0 g, Saccharose 30,0 g, dest. Wasser 1 Liter.

Zu dieser Nährlösung wurden verschiedene Antiwirkstoffe hinzugefügt. Wir konnten die Erfahrung machen, daß die Konidien des Honigtaus den Antiwirkstoffen gegenüber viel widerstandsfähiger sind als die saprophytischen Konidien. Nachher untersuchten wir, ob der Saft des Honigtaus protektive Stoffe enthalte, oder ob die Konidien selbst virulenter seien. Zu diesem Zweck wurde Honigtau im Verhältnis von 1 : 50 verdünnt und zentrifugiert. Die gewaschenen Konidien ließen wir besonders keimen, den konidienfreien Saft mengten wir zu obiger Nährlösung und ließen darin saprophytische Konidien keimen.

Wir konnten die Erfahrung machen, daß der Keimungsprozentsatz der saprophytischen Konidien in Gegenwart von Honigtausaft etwas höher ist und die Hyphen wesentlich schneller wachsen. Die hemmende Wirkung der Salizylsäure und des Sulphamethylthiasols (2-Sulphanylamido-4-methylthiasol) wurde durch konidienfreien Honigtausaft teilweise aufgehoben, dem Hexachlorcyclohexan und der Trijodbenzoësäure gegenüber wirkte er jedoch nicht protektiv. Der Saft des Honigtaus hat auch die Keimung der parasitischen Konidien gefördert. Die diesbezüglichen Daten sind aus Tabelle 1 ersichtlich.

Außerdem wurde untersucht, ob die Wirkung der Antivitamine eine spezifische sei. Wir konnten feststellen, daß durch 10^{-3} Mol Panthothensäure die Wirkung der Salizylsäure teilweise aufgehoben und die hemmende Wir-

kung des Sulphamethylthiasols durch $2 \cdot 10^{-3}$ p-Aminobenzoësäure beinahe vollkommen kompensiert wird, es gelang jedoch nicht, die Hexachlorcyklohexan-Wirkung durch Inosit aufzuheben. Die erwähnten Vitamine, für sich selbst dosiert, förderten weder die Keimung noch das Wachstum der Hyphen.

Tabelle 1

Die Länge der Keimhyphen der Konidien parasitischen und saprophytischen Ursprungs in Mikron in Gegenwart von verschiedenen Antiwirkstoffen. Die schützende und fördernde Wirkung des Honigtaus

Nährboden + Antiwirkstoffe	Die Länge der Hyphen binnen 24 Stunden gekeimter Konidien in Mikron			
	Saprophyten		Parasiten	
	Nährlösung	Nährlösung + Honigtausaft	Nährlösung	Nährlösung + Honigtausaft
Salizylsäure 10^{-3} Mol	0	105	225	250
Sulphamethylthiasol $2 \cdot 10^{-3}$ Mol	28	160	163	225
Hexachlorcyclohexan $5 \cdot 10^{-3}$ Mol	0	0	105	105
Trijodbenzoesäure $5 \cdot 10^{-3}$ Mol	0	0	130	180
Kontrolle	105	325	240	420

Zusammenfassung

Zusammenfassend konnten wir also feststellen, daß Konidien des Honigtaus selbst in vitro virulenter sind als die saprophytischen Konidien, ferner daß der konidienfreie Saft des Honigtaus fördernde und den Antivitaminen gegenüber protektive chemische Verbindungen enthält und daß seine größere Infektionsfähigkeit wenigstens teilweise darauf zurückzuführen ist.

Bezüglich der schützenden und fördernden Stoffe gelang es uns nicht, Näheres festzustellen. Zu bemerken ist, daß auf Grund der Untersuchungen von Carroll und Peng (2) die Wahrscheinlichkeit besteht, daß auch Mutterkorn Vitamine enthält.

Summary

Experiments on the influencing of antimetabolites and honey dew sap on the germination of ergot conidia of parasitical and saprophytical origin are reported.

The honey-dew sap contains such substances, which are stimulating and such ones which are protective against antimetabolites.

Literaturverzeichnis

1. Kirchhoff, H.: Z. f. Bakt. II. Abt. 77, 310, 1929.
2. Carroll J. C. and Peng, Lee· Science 113, 211, 1951.

Besprechungen

Mücke, D.: Einführung in mikrobiologische Bestimmungsverfahren. Quantitative Bestimmung von Aminosäuren und Vitaminen des B-Komplexes. Verlag Georg Thieme, Leipzig 1955. 138 S., 16 Abb., 38 Tab., geb. DM 12,80.

Mikrobiologische Testmethoden für Vitamine und Aminosäuren haben in biochemisch arbeitenden Forschungs- und Untersuchungslaboratorien zunehmende Bedeutung erlangt. Die Benutzung von Mikroorganismen für die quantitative Bestimmung von Vitaminen und anderen Substanzen mit Wirkstoffcharakter hat sich aus der Grundlagenforschung über Wachstumsbedürfnisse ergeben und ist im wesentlichen von amerikanischen Forschern zu Routineverfahren entwickelt worden. Daher ist es nicht überraschend, wenn die vom Autor zitierten Literaturhinweise (157 Angaben) mit fast 90 % zum amerikanischen Schrifttum zählen. Bei den zu verwendenden Testorganismen handelt es sich ausschließlich um bestimmte Stämme der ATCC (American Type Culture Collection); die Durchführung der beschriebenen Bestimmungsverfahren ist an die betreffenden Stämme sowie die Verwendung einer Anzahl von Difco-Präparaten (Nährbodenmaterialien der Difco-Laboratories, Detroit) gebunden.

Nach einigen etwas sehr kurz gehaltenen grundsätzlichen Ausführungen über das Wesen des mikrobiologischen Testes folgt eine Beschreibung der verwendeten Testorganismen, unter Berücksichtigung ihrer systematischen Stellung. Die Gruppierung erfolgt nach Protozoen, Pilzen, Hefen und Bakterien. Es mag hier darauf hingewiesen werden, daß die Hefen nicht zur „Gattung der Ascomyceten" (S. 11) gehören und daß sich der „Riesenschimmel *Phycomyces blakesleeanus* Bgff." (S. 49) nach dem Botaniker Blakeslee mit großem Anfangsbuchstaben schreibt.

Nach kurzen Angaben über die Kultur der Testorganismen und verschiedene Konservierungsverfahren werden Reinigungsmethoden für die in den Testsubstraten verwendeten organischen Substanzen besprochen. Der allgemeine Teil endigt mit einigen Bemerkungen über Fragen der Sterilisation, Auswertung der Versuche und Behandlung der Glasgeräte. Ausführlich werden auf fast 100 Seiten die Bestimmungsmethoden der einzelnen Vitamine des B-Komplexes und der Aminosäuren beschrieben. Es wird im wesentlichen das gebracht, was in ausführlicherer Form auch in der ausgezeichneten Darstellung von Esmond E. Snell als „Microbiological Methods in Vitamin Research" im 1. Band von P. Györgys „Vitamin Methods" zu finden ist. (Das Buch ist 1950 bei Academic Press Inc., New York, erschienen; der betreffende Artikel von Snell umfaßt die Seiten 327—505.) Im Schrifttumsnachweis von E. Mücke wird diese Arbeit unter 117 unvollständigerweise nur mit: Snell, E. E., Vitamin Methods 1: 327 (1950) erwähnt.

Abgesehen von einigen sprachlichen Mängeln (Mikrobialanalytik, Mikrobialtestungen, Mikrobenkonserven u. a.) und einzelnen Fehlern (S. 110 wird z. B. von der Beimpfung mit einer Sporensuspension von *Lactobacillus arabinosus* gesprochen, obwohl die *Lactobacteriaceen* bekanntlich keine Sporen bilden!) kann die „Einführung in mikrobiologische Bestimmungsverfahren" dort als gewisser Ersatz für die von E. E. Snell geschriebene ausführliche Anleitung dienen, wo diese im Original nicht zur Verfügung steht.

Stolp, Berlin-Dahlem

Scheffer, F. und Welte, E.: Lehrbuch der Agrikulturchemie und Bodenkunde. II. Teil: Pflanzenernährung. Enke-Verlag, Stuttgart 1955. XI, 240 S. Geh. DM 21,—, Ganzl. DM 23,50.

Die dritte Auflage des Lehrbuches der Pflanzenernährung ist gegenüber der vorhergehenden in allen Kapiteln sehr wesentlich, im Gesamtumfang um mehr als die Hälfte erweitert, auch die Zahl der Abbildungen und Tabellen ist beträchtlich vermehrt. Der

Gesamtaufbau hält sich an den der zweiten Auflage. Im ersten Abschnitt wird eine allgemeine Erläuterung des Begriffs der Wachstums- und Ertragsfaktoren gegeben. Im zweiten Abschnitt werden diese dann im einzelnen besprochen. Die klimatischen Wachstumsfaktoren Licht, Wärme und Luft und die über den Boden chemisch und biochemisch wirksamen Faktoren Wasser, Mineral- und Wirkstoffe werden hinsichtlich ihrer unmittelbaren Bedeutung für Wachstum, Ertrag und Qualität und in ihrem Zusammenwirken erörtert. Die vielfach ausführlichen biochemischen Betrachtungen zeigen, wie sehr im letzten Jahrzehnt neben den früher vorwiegend auf den Ertrag ausgerichteten Forschungszielen der agrikulturchemischen Pflanzenernährungslehre qualitative Überlegungen Raum gewonnen haben. Im dritten Abschnitt werden die Bedingungen der Nährstoffaufnahme durch die Pflanze mit den zahlreichen chemischen und physikalisch-chemischen Wechselbeziehungen zwischen Pflanzenwurzel und Boden unter Berücksichtigung der zum Teil neuartigen Vorstellungen hierüber dargelegt. Der vierte Abschnitt befaßt sich wie früher mit dem Ertragsgesetz. Neu aufgenommen ist ein fünfter Abschnitt, der das Wachstumsgesetz behandelt.

Das als Lehrbuch bezeichnete Werk geht über den hiernach zu erwartenden Rahmen hinaus. Aus der großen praktischen Erfahrung der beiden Autoren in der Pflanzenernährung und einer umfangreichen Kenntnis und Berücksichtigung der Weltliteratur werden die dargestellten Forschungsgebiete in einer Form und einem Umfange behandelt, daß auch engere Fachgenossen, insbesondere bei den Kapiteln über die Wechselwirkung der mineralischen Nährstoffe, über ihren Einfluß auf den Stoffaufbau und über die organischen Wirkstoffe, manchen neuen Gesichtspunkt finden werden.

Zur besonderen Beachtung ist das Buch den Pflanzenpathologen zu empfehlen. Dies gilt weniger wegen der mit der Besprechung der Spurenelemente verbundenen Erörterungen der Mangelkrankheiten als vielmehr deshalb, weil nur aus einer umfassenden Kenntnis der neuesten Vorstellungen über die normalen Bedingungen der Aufnahme sowie der mittelbaren und unmittelbaren und der antagonistischen Wirkungen der Nähr- und Wirkstoffe die zahlreichen Möglichkeiten von Ertragsminderungen verstanden werden können, die sich aus nichtparasitären, vom Boden ausgehenden chemischen und biochemischen Ursachen ergeben. Das Buch kann deshalb bei aufmerksamem Studium dem Phytopathologen Anregungen zur Beobachtung und Deutung von Wachstumsanomalien vermitteln, die ohne die Kenntnis der neueren Forschungsergebnisse über die Pflanzenernährung schwierig zu beurteilen sind. Dies darf deshalb gesagt werden, weil das hierfür einschlägige Schrifttum nicht in den üblichen Bereich der Pflanzenpathologie fällt. Das Buch, das in keinem mit Landbau beschäftigten Institut fehlen sollte, verdient deshalb auch, in jede phytopathologische Bücherei aufgenommen zu werden.

E. Pfeil, Hann.-Münden

Biochemie der Spurenelemente

Von Prof. Dr. K. SCHARRER

Direktor des Agrikulturchemischen Instituts der Justus Liebig-Hochschule, Gießen

3., neubearbeitete und wesentlich erweiterte Auflage.

1955. 412 Seiten und 8 Farbtafeln. In Ganzleinen DM 39,60

Dieses grundlegende deutschsprachige Standardwerk umfaßt alle bisher als wichtig für das Gedeihen von Pflanze, Mensch und Tier erkannten Spurenelemente (Mikronährstoffe) in ihrer Wirkung und Bedeutung für die Organismen. Erstmalig im deutschen Schrifttum wurde das in- und ausländische Schrifttum zusammengefaßt und nach Elementen geordnet in mehr als 2600 Literaturzitaten aufgeführt.

„Für den Pflanzenschutz hat das Buch unschätzbare Werte, da nach dem heutigen Wissen viele Krankheiten unserer Kulturpflanzen auf Mangelerscheinungen zurückzuführen sind."

Min.-Rat Dr. DREES in „Gesunde Pflanzen"

„Das Buch ist für jeden Pflanzenphysiologen und -pathologen als unentbehrlich zu betrachten."

Zeitschrift für Pflanzenbau und Pflanzenschutz

Krankheiten und Schädlinge der Zierpflanzen und ihre Bekämpfung

Von Ob.-Reg.-Rat Dr. H. PAPE

Mitglied der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Vorsteher des Laboratoriums für gärtnerischen Pflanzenbau, Kiel-Kitzeberg

4., neubearbeitete und erweiterte Auflage

1955. 567 Seiten mit 474 Textabbildungen und 4 Farbtafeln. In Ganzleinen DM 53,80

Die Neuauflage dieses bekannten Werkes unterrichtet zuverlässig über Ursachen, Verhütung und Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen der Zierpflanzen im Gewächshaus und im Freiland. Der übersichtlich gegliederte Text in Verbindung mit zahlreichen Abbildungen und vier sehr eindrucksvollen Farbtafeln ermöglicht ein schnelles Erkennen und die sichere Diagnose jeder auftretenden Krankheit. Das internationale Schrifttum wurde ebenso berücksichtigt, wie die letzten Erkenntnisse und Erfahrungen der Forschung, Industrie und Praxis im In- und Ausland.

„Papes Buch ist viel zu bekannt und bewährt, als daß es einer besonderen Empfehlung bedürfte. Es gehört zum klassischen Bestand nicht nur des deutschen, sondern der internationalen Literatur."

Angewandte Botanik

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Seit Juni 1955 erscheint in etwa monatlichen Lieferungen:

HANDBUCH DER PFLANZENZÜCHTUNG

Begründet von Prof. Dr. Dr. h. c. TH. ROEMER und Prof. Dr. W. RUDORF

2. Auflage in 6 Bänden

Unter Mitwirkung zahlreicher Wissenschaftler und in Gemeinschaft mit den Professoren Dr. H. K. HAYES, St. Paul/USA, und Dr. A. MÜNTZING, Lund/Schweden

herausgegeben von

Prof. Dr. **H. KAPPERT**, Berlin und Prof. Dr. **W. RUDORF**, Köln-Vogelsang

I. Band
Grundlagen der Pflanzenzüchtung

II. Band
Züchtung der Getreidearten

III. Band
Züchtung von Knollen- und Wurzelfruchtarten

IV. Band
Züchtung der Futterpflanzen

V. Band
Züchtung der Sonderkulturen
(Öl-, Eiweiß-, Faser- und Gewürzpflanzen sowie Drogen)

VI. Band
Züchtung von Obst, Gemüse und Reben.

Anhang: Forstpflanzenzüchtung

Die Neuauflage dieses Standardwerkes für die landwirtschaftliche und gärtnerische Pflanzenzüchtung stellt gegenüber der ersten Auflage eine völlige Neuschöpfung dar, in der die letzten sicheren Forschungsergebnisse des In- und Auslandes verwertet wurden. Im Zeitalter der Spezialisierung auf allen Gebieten bietet das Werk eine hervorragende und jedem Züchter willkommene Synthese der in zahllosen, verstreuten Abhandlungen und Darstellungen enthaltenen Einzelergebnisse. Der internationale Charakter des reich illustrierten Werkes wird durch die Veröffentlichung der Beiträge in deutscher oder englischer Sprache hervorgehoben.

Seit Juni 1955 erscheint die Neuauflage dieses großangelegten Werkes in etwa monatlichen Lieferungen. Die Lieferung umfaßt 5 Bogen zu 16 Seiten. Ermäßigter Subskriptionspreis der Lieferung DM 13,50, der mit Ausgabe der letzten Lieferung erlischt. Einbanddecken gelangen am Schluß jedes Bandes zur Ausgabe und werden gesondert berechnet. Die Subskription verpflichtet zur Abnahme des Gesamtwerkes (etwa 38 Lieferungen).

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey. (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).